BAND 29, HEFT 2 APRIL 1957

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. T. Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 46 Abbildungen

1957

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 29 Heft 2 *S. 121—232 Berlin 1957*

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTI
6 MAY 1957

INHALT

Abhandlungen

WELTZIEN, H. C., Untersuchungen über den Befall von Winterweizen durch *Tilletia tritici* (Bjerk.) Winter unter besonderer Berücksichtigung der Frage der Beizmittelresistenz. Mit 3 Abb. 121

GEMEINHARDT, H., Untersuchungen über den Saprophytismus des *Colletotrichum atramentarium* (B. et Br.) Taub. und die Lebensdauer der Sklerotien (Acervuli) des Pilzes. Mit 7 Abb. 151

BACHMANN, E., Über den Einfluß von Pyridin und Pyridin-Derivaten auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra nitida* und *Rhoeo discolor*. Mit 8 Abb. 177

VERONA, O., Sostanze ad azione flocculante presenti in alcuni semi. Con 1 figura .. 185

ORSENIGO, M., Estrazione e purificazione della *Cochliobolina*, una tossina prodotta da *Helminthosporium oryzae*. Con 3 grafici 189

KÖHLER, E., Über die Beziehung zwischen Viruskonzentration von Impflösungen und Infektionshäufigkeit. III. Der Einfluß infektionshemmender Säfte auf die Infektiositätsverdünnungskurve. Mit 9 Abb. 197

HEIN, A., Beiträge zur Kenntnis der Viruskrankheiten an Unkräutern. III. Das Gurkenmosaikvirus. Mit 15 Abb. 204

Besprechungen 230

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 24,— DM **Einzelpreis 26,40 DM**

Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. H. Braun

Untersuchungen über den Befall von Winterweizen durch *Tilletia tritici* (Bjerk.) Winter unter besonderer Berücksichtigung der Frage der Beizmittelresistenz[1])

Von

H. C. Weltzien

Mit 3 Abbildungen

Obwohl seit der Entwicklung der modernen Quecksilberbeizmittel eine wirksame Bekämpfung des Weizensteinbrandes möglich war, sind doch immer wieder Fälle bekannt geworden, in denen trotz Beizung Befall auftrat (vgl. Krause 1932; Winkelmann 1935; Voss 1938; Moore 1944; Borzini und Cifferri 1947; Zogg, Horber, Salzmann 1948; Keding 1951; Pielen 1952; Kirchner 1953). Eigene Umfragen bei den westdeutschen Pflanzenschutzämtern sowie Erhebungen im Gebiet der Landwirtschaftskammer Rheinland bestätigten ebenfalls das zum Teil bemerkenswert häufige Auftreten von *Tilletia*-Infektionen nach Aussaat gebeizten Saatgutes. Als Ursachen werden in der Literatur diskutiert:

a) Mangelnde Qualität der Beizmittel während der Kriegs- und Nachkriegszeit (Borzini und Cifferri l. c.).
b) Schlechte Ausführung der Beizung in der landwirtschaftlichen Praxis (Pielen 1952; Zogg, Horber, Salzmann 1948).
c) Unwirksamkeit besonders der Trockenbeizmittel gegenüber Sporen in teilweise befallenen Körnern (Gassner 1938; Savulescu und Hulea 1944; Grasso 1946).
d) Mangelnde Beizwirkung bei erneuter Saatgutverseuchung nach der Beizung (Winkelmann 1935; Kirchner 1953).
e) Entmischung von Saatgut und Trockenbeizmittel beim Transport usw. (Pielen 1952; Kirchner 1953).
f) Unwirksamkeit der Beizmittel bei Bodenverseuchung (Rapin 1946; Rademacher 1951; Lansade, Ponchet und Guntz 1951; Priefer 1953; Zobrist und Thiollière 1954).

[1]) Auszug aus einer der Landwirtschaftlichen Fakultät der Universität Bonn 1954 unter dem gleichen Titel vorgelegten Dissertation.

g) Auftreten von *Tilletia*-Stämmen mit erhöhter Beizmittelresistenz (WINKELMANN 1935; GASSNER 1952; PIELEN 1952; BRAUN und RIEHM 1953; WINKELMANN und PAUL 1954; MÜLLER und SCHUHMANN 1954).

Im folgenden wird über Untersuchungen zu den unter f) bis g) genannten Fragen berichtet, deren Klärung heute von besonderem Interesse ist.

I. Untersuchungen über die Bedeutung einer Verseuchung der Böden mit Normalsteinbrandsporen

1. Die Dauer der Infektionsfähigkeit in den Boden eingebrachter Steinbrandsporen

Da die Möglichkeit einer länger anhaltenden Bodenverseuchung durch Normalsteinbrandsporen in der zitierten neueren Literatur mehrfach wieder diskutiert worden ist, wurde diese Frage erneut aufgegriffen. APPEL und RIEHM (1913) sowie BONNE (1931) hatten in ihren Untersuchungen bereits das Abklingen der Infektionsfähigkeit nach vier bis sechs Wochen festgestellt. Mit einem im Herbst 1951 durchgeführten Versuch sollte die Gültigkeit dieser Ergebnisse erneut überprüft werden[1]).

Methodik

Sporen mit Sand gemischt (1 : 2000) wurden reihenweise in 0,5 cm dicker Schicht in mit Kompost angereicherte Gartenerde eingebracht und mit 3 cm Erde abgedeckt. Die Aussaat erfolgte wöchentlich in die infektiöse Schicht. Die Saattermine lagen zwischen dem 25. Oktober 1951 und dem 31. Januar 1952. Die Anzahl der Pflanzen betrug bei jedem Aussaattermin etwa 200 Versuchs- und 200 Kontrollpflanzen. Als Weizensorte wurde „Heines IV" verwendet. Die Auswertung erfolgte im Juli 1952 nach Einzelpflanzen.

Ergebnisse

Es zeigte sich, daß der Befall bei gleichzeitiger Aussaat von Sporen und Saat bei 18,3 % lag; Aussaat ein bzw. zwei bzw. drei Wochen nach Bodenverseuchung ergab 8,9 bzw. 8,6 bzw. 1,1 % Befall, während bei Aussaat vier Wochen oder später nach der Bodenverseuchung der Befall völlig ausblieb. Damit wurden die Ergebnisse früherer Untersuchungen voll bestätigt. Ein Anhaltspunkt für die Möglichkeit einer zunehmenden Bodenverseuchung durch Normalsteinbrandsporen ergab sich nicht.

2. Die Haltbarkeit von Brandbutten im Boden

Diese bereits von HANNA und POPP (1933, 1934) in Freilandversuchen in Kanada untersuchte Frage wurde in einer kleineren Gefäßversuchsserie aufgegriffen, um festzustellen, mit welcher Zeitdauer für die Zerstörung unversehrter Butten in Erde ungefähr gerechnet werden muß.

[1]) Für Überlassung des Sporenmaterials danke ich der Abteilung Pflanzenschutz der Bayer-Farbwerke Leverkusen.

Methodik

Unversehrte Butten wurden in Tongefäßen mit Gartenerde 3 cm mit Boden abgedeckt und gleichmäßig feucht gehalten (etwa 40 % WK). Aufstellung vor Sonne geschützt bei Zimmertemperatur (15 bis 20 ° C). In regelmäßigen Abständen wurden Butten entnommen, in Leitungswasser zerdrückt, die Sporenaufschwemmung auf Schlämmerde ausgestrichen und durch Beobachtung der Sporidienbildung auf ihre Keimfähigkeit getestet.

Ergebnisse

Von der vierten Versuchswoche ab war eine deutliche Abnahme der Sporenkeimfähigkeit, zwischen der achten und zehnten Versuchswoche die totale Zerstörung der Butten und Sporen zu beobachten. Aus diesem Ergebnis ist zu schließen, daß auch durch unversehrte Butten eine Verseuchung unserer Böden „auf Jahre hinaus" (Zobrist und Thiollière 1954) nicht möglich ist, da bei genügender Feuchtigkeit rasche Zersetzung erfolgt.

3. Die Steinbrandinfektion nach Bodenverseuchung unter dem Einfluß verschiedener Faktoren und die Möglichkeiten zu ihrer Bekämpfung mit Beizmitteln

Die Frage der Bekämpfungsmöglichkeit des Steinbrandes nach Bodenverseuchung wurde in einer größeren Gefäßversuchsserie geprüft, wobei neben zwei quecksilberhaltigen Präparaten (Ceresan-Trockenbeize und Fusariol-Trockenbeize) vor allem auch ein chlornitrobenzolhaltiges Mittel geprüft wurde (Tritisan). Da inzwischen bereits von anderer Seite mehrfach über Versuche mit ähnlicher Fragestellung berichtet worden ist (Rademacher 1951; Wagner 1952; Priefer 1953; Zobrist und Thiollière 1954) seien meine Ergebnisse hierzu nur zusammengefaßt dargestellt.

In ihrem Einfluß auf das Befallsergebnis nach Bodenverseuchung wurden folgende Faktoren geprüft:

3 Bodenarten: Humoser lehmiger Sand, milder Lößlehm, schwerer Lehm.
2 Verseuchungsgrade: 10 und 100 mg Sporen je Versuchsgefäß.
3 Beizmittel: Ceresan-Trockenbeize, Fusariol-Trockenbeize, Tritisan.
3 Beizmitteldosierungen: 100, 200 und 300 g/dz Saatgut.

Methodik

In Tongefäßen von 22 cm Tiefe und 22 cm Durchmesser mit 7 kg Erdfüllung wurden jeweils 25 Winterweizenpflanzen der Sorte Carstens V angezogen. Düngung: 2 g N, 2 g K_2O, 1 g P_2O_5 je Gefäß. Die Sättigung der Wasserkapazität betrug während der ersten acht Versuchswochen 60 %, später wurde nach Bedarf gegossen. Aussaat erfolgte am 7. Januar 1953, Aufgang am 2. Februar 1953. Zur Bodenverseuchung diente eine von den Farbwerken Hoechst zur Verfügung gestellte Sporenherkunft (Nr. 19a der Übersicht 1 auf S. 128). Die Sporen wurden in einer Menge Leitungswasser suspendiert, die der nicht gesättigten Wasserkapazität der oberen 5 cm Boden entsprach, und mit einer feinen Brause auf die Gefäßoberfläche aufgesprüht. Bei idealer Verteilung betrug der verseuchte Raum somit etwa 2000 cm^3,

Tabelle 1

Anzahl der kranken Pflanzen von je 25 insgesamt und mittlere Befallszahlen in Prozent ($\bar{x}$),

geordnet nach den drei verwendeten Bodenarten mit den Verseuchungsgraden von 100 und 10 mg Sporen je Gefäß (100,10) sowie nach den Samenbehandlungen: Beizung mit Ceresan tr. und Fusariol tr. mit 100, 200 und 300 g Beizmittel/dz Saatgut und Kontrolle

			Lehmiger Sand			Lößlehm			Schwerer Lehm				
			100	$\bar{x}$	10	100	$\bar{x}$	10	100	$\bar{x}$	10	$\bar{x}$	$\bar{x}$
Fusariol	100	a	23		23	23		15	22		13		
		b	22		21	23		11	19		16		
		c	25		19	24		22	22		13		
		d	21		16	23		21	13		10		
		$\bar{x}$	91	85	79	93	81	69	76	64	42	76,7	
	200	a	16		16	19		13	18		10		
		b	16		21	16		15	21		12		
		c	21		10	20		16	18		8		66,3
		d	20		11	20		17	13		14		
		$\bar{x}$	73	66	58	75	68	61	70	51	44	63,5	
	300	a	18		16	14		12	19		10		
		b	22		15	19		11	11		11		
		c	20		10	19		14	18		16		
		d	18		13	17		11	11		6		
		$\bar{x}$	78	66	54	69	59	48	59	51	43	58,5	
Ceresan	100	a	24		13	24		17	19		15		
		b	23		12	19		16	25		11		
		c	22		21	20		13	18		13		
		d	23		17	23		16	19		19		
		$\bar{x}$	92	78	63	86	74	62	81	70	58	73,7	
	200	a	19		17	21		8	21		10		
		b	22		16	19		11	18		9		
		c	15		12	15		13	17		12		63,2
		d	22		12	18		19	20		9		
		$\bar{x}$	78	68	57	73	62	51	76	58	40	62,5	
	300	a	21		6	17		13	17		15		
		b	13		4	10		8	17		16		
		c	18		9	17		9	16		7		
		d	17		13	17		11	21		8		
		$\bar{x}$	69	51	32	61	51	41	71	57	46	53,3	
Kontrolle ungebeizt		a	21		14	20		14	16		16		
		b	18		12	13		13	12		12		
		c	20		15	20		17	18		13		
		d	18		8	16		14	16		13		
		$\bar{x}$	77	63	49	69	64	58	62	58	54		60,2
Gesamtmittelwerte		$\bar{x}$	79,7	67,9	56,0	75,0	65,5	55,7	71,1	59,5	48,1		64,2

also 0,05 bzw. 0,005 mg Sporen/cm³ Boden. Gemäß der von BREDEMANN 1911 angegebenen „Normalzahl" (1 mg Brandstaub enthält etwa 450 000 Sporen) entspricht das einer Sporenzahl von 22 500 bzw. 2250 Sporen/cm³. Wie die mikroskopische Prüfung ergab, wurde eine ideale Verteilung der Sporen allerdings nicht erreicht, vielmehr nahm ihre Zahl von oben nach unten erwartungsgemäß deutlich ab, doch waren auch in 5 cm Tiefe noch Sporen gut nachzuweisen.

Ergebnisse

Die Feststellung der Ergebnisse erfolgte im Juli 1953 durch Auszählung der erkrankten Einzelpflanzen und deren Angabe in Prozent der Gesamtpflanzenzahl.

Am auffälligsten war die unterschiedliche Wirkung der Beizmittel. Der mittlere Befall aller Gefäße betrug bei Fusariol 66,3 %, bei Ceresan 63,2 % und bei Tritisan 0,75 %. Diese deutliche Überlegenheit des Tritisans über die quecksilberhaltigen Beizmittel ergab sich in voller Übereinstimmung mit den Ergebnissen der oben zitierten Autoren.

Die weitere Auswertung erfolgte varianzanalytisch unter Berücksichtigung der auf S. 136 genannten Voraussetzungen. Die praktisch befallsfreien Tritisan-Gruppen konnten dabei unberücksichtigt bleiben. Die für die Beurteilung wichtigen Einzelwerte sowie die verschiedenen Mittelwerte ($\bar{x}$) gibt Tabelle 1 wieder.

Die Ergebnisse der statistischen Bearbeitung dieser Werte sind in der Varianzanalyse 1 zusammengefaßt. Sie gibt die doppelte Zerlegung der Streuungen von 42 Versuchsgruppen wieder (zwei Beizmittel in drei Dosierungen sowie Kontrollen in drei Böden mit zwei Verseuchungsgraden), die entsprechend den Angaben von LINDER 1951 durchgeführt wurde (SQ Summe der Abweichungsquadrate; FG Freiheitsgrade; $s^2 = \frac{SQ}{FG}$; F-Test für eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von 5 % nach der Tabelle bei SNEDECOR 1946, S. 222—225).

Varianzanalyse 1

Doppelte Zerlegung der Streuung der Werte aus Tabelle 1 durch Aufteilung in die verschiedenen Streuungsursachen

Streuungsursache		SQ	FG	s^2	F errechnet	F Tabelle für P % = 5
Zwischen den Gruppen	Böden (B)	131	2	65,5	7,3	3,17
	Verseuchungsgrade (V)	1259	1	1259,0	139,9	3,92
	Saatgutbehandlung (S)	609	6	101,5	11,3	2,29
	B·V	9	2	4,5	0,5	
	B·V	151	12	12,6	1,4	1,83
	V·S	45	6	7,5	0,8	
	B·V·S	86	12	7,2	0,8	
Innerhalb der Gruppen (Rest)		1137	126	9,0		
Total		3427	167			

Da die vier Wechselwirkungen nicht gesichert sind (F-errechnet < F-Tabelle), haben die drei geprüften Faktorengruppen sich gegenseitig nachweisbar nicht beeinflußt, sondern unabhängig voneinander auf den Befall gewirkt. Am deutlichsten ist dabei die Wirkung des Verseuchungsgrades. Seine Erhöhung von 10 auf 100 mg ergab im Mittel eine gesicherte Befallssteigerung von 53 % auf 75 %, also um 22 %. Bei den Bodenarten dagegen beruht die Sicherung nur auf der Wirkung des schweren Lehms, der den Befall gegenüber den beiden anderen Böden im Mittel um 7,2 % drückte. Die Abweichungen zwischen den Befallszahlen in sandigem Lehm und in Lößlehm sind nur als zufällig zu betrachten.

Für die Beurteilung des Einflusses der Saatgutbehandlungen benutzen wir die kleinste gesicherte Differenz, GD. Berechnung nach LINDER 1951:

$$GD = \sqrt{\frac{2 \cdot s^2_{Rest}}{N}} .$$

Sie beträgt hier für die üblichen Überschreitungswahrscheinlichkeiten von P = 5 bzw. 1 bzw. 0,1 %, 4,18 bzw. 5,4 bzw. 7,1 %. Die zwar schwache aber eindeutige Wirkung der Beizmitteldosierungen auf den Befall sowie die offenbar zufälligen Differenzen zwischen den Befallszahlen der Quecksilberbeizen bedürfen hiernach keiner weiteren Interpretation. Besonders interessant ist aber der Vergleich des Kontrollbefalls mit den übrigen Befallszahlen, wie ihn Tabelle 2 wiedergibt.

Tabelle 2

Der mittlere Befall der ungebeizten Kontrollen, verglichen mit dem der gebeizten Proben

Samenbehandlung:	ungebeizt	gebeizt mit Ceresan oder Fusariol in g/dz		
		100	200	300
Mittlerer Befall in %	60,2	75,2	63,0	55,9
Differenz gegenüber ungebeizt		+ 15,2***	+ 2,8	— 4,3*

*** = P < 0,1% * = P < 5%

Das Ergebnis ist insofern bemerkenswert, als bei den unterdosiert gebeizten Proben der Befall gesichert höher war als bei den Kontrollen. Deren Befall entsprach statistisch dem der normal gebeizten Proben. Erst die Überdosierung bewirkte ein geringes Absinken der Befallszahlen unter die Kontrollwerte. Die größte Differenz von 15,0 % überschreitet dabei die statistischen Sicherheitsgrenzen so deutlich, daß an ihrer Echtheit nicht gezweifelt werden kann. Die Konstanz dieser Differenz ist auch aus Tabelle 1 direkt erkennbar, da mit einer Ausnahme in jedem Einzelfall der Kontrollbefall niedriger als der zugehörige Befallswert bei Unterbeizung ist.

Wir müssen daraus schließen, daß die Beizmittel hier in irgendeiner Form das Zustandekommen der Infektion begünstigt haben. Eine derartige Wirkung der Beizung ist bisher noch nicht nachgewiesen worden. Ein Hinweis findet sich allerdings bei PRIEFER 1953, der in einem *Tilletia*-Feldversuch mit

Bodenverseuchung bei normal dosierter Beizung mit „üblichen Beizmitteln" (offenbar Quecksilberpräparaten) einen gegenüber den Kontrollen um 3,1 % erhöhten Befall beobachtete und dazu unter Bezugnahme auf BRAUN und RIEHM 1953 bemerkt: „Derartige Wirkungen sind aus der Literatur bekannt". PRIEFER hat aber offenbar diese Autoren mißverstanden, die hier die erwähnte Arbeit von WINKELMANN 1935 zitieren. Im übrigen ergibt sich aus dem von PRIEFER mitgeteilten Zahlenmaterial eine statistische Sicherung der erwähnten Differenz von 3,1 % nicht. Sie muß folglich als zufällige Abweichung aufgefaßt werden. Andererseits ist bemerkenswert, daß auch bei einem Teil der von ZOBRIST und THIOLLIÈRE durchgeführten Beizversuche bei Bodenverseuchung der Befall nach Beizung mit Quecksilberpräparaten etwas über dem der Kontrollen lag, doch lassen sich die Differenzen hier nicht auf ihre Sicherheit prüfen.

Ob als Ursache für die in meinen Untersuchungen gefundene befallsfördernde Wirkung der unterdosierten Quecksilberbeizung eine Stimulation der Sporenkeimung durch stark verdünnte Wirkstofflösungen in Frage kommt, wie sie RABIEN 1927 beschrieben hat, oder ob andere Ursachen dafür verantwortlich sind, muß zunächst noch offen bleiben.

II. Untersuchungen über das Auftreten von Steinbrandherkünften mit erhöhter Beizmittelresistenz

Im Anschluß an die Vermutungen von WINKELMANN 1935 über das Auftreten beizmittelresistenter Steinbrandformen war diese Frage experimentell zu bearbeiten. (Vgl. hierzu auch die inzwischen erschienenen Arbeiten von WINKELMANN und PAUL 1954 sowie MÜLLER und SCHUHMANN 1954).

Als Ausgangspunkte für diese Untersuchungen sind folgende Feststellungen von Bedeutung: BEVER 1939 und FITTSCHEN 1940 haben gezeigt, daß fortgesetzte Passage des Parasiten über die gleiche Wirtssorte zu einer konstanten Pathogenität führt und demnach bei wiederholter Einwirkung bestimmter Faktoren mit einer gewissen Homogenisierung einer solchen Herkunft zu rechnen ist. Sie bezeichnen derartige, durch die Wirtssorte homogenisierte Herkünfte als „Linien". Demnach kann man keineswegs sicher darauf rechnen, daß zu Versuchszwecken verwendete Steinbrandsporen, die meist unter möglichst günstigen Infektionsbedingungen über dieselbe Wirtssorte langjährig vermehrt werden, ein richtiges Bild über das Verhalten der in der Praxis auftretenden Herkünfte geben. Erstere zeichnen sich zwar durch eine hohe Pathogenität gegenüber der Versuchssorte aus, die jedoch u. U. durch eine Einschränkung der Vielförmigkeit der Population erreicht worden ist. Demnach besteht die Gefahr, daß eventuelle Verschiebungen im Reaktionsverhalten der Herkünfte der Beobachtung entgehen. Ich griff daher für meine eigenen Untersuchungen auch auf neu gesammelte Herkünfte zurück. Bezüglich des Auftretens von beizmittelresistenten Herkünften war zu bedenken, daß solche Herkünfte nur durch langsame Selektion entstehen konnten und mit dem Auftreten absolut resistenter Formen daher nicht zu rechnen war. Gewisse Verschiebungen im Resistenzverhalten einzelner Herkünfte gegenüber Beizmitteln erschienen dagegen denkbar.

Übersicht 1

Zusammenstellung der untersuchten Sporenherkünfte

Lfd. Nr.	Herkunftsbezirk	Wirtssorte	Vorfrucht	Beizmittel
1	Bonn	Derenbg. Silb.	Zuckerrüben	ungebeizt
2	Jülich	Carstens VI	Hafer Zuckerrüben	Ceresan tr.
3	Jülich	Carstens V	Klee	Ceresan tr.
4	Düren	Taca	Zuckerrüben	Ceresan tr.
5	Düren	Heines II	Zuckerrüben	Ceresan kn.
6	Düren	Carstens VI	?	Ceresan tr.
7	Bergheim	Marschall	Zuckerrüben	ungebeizt
8	Köln	Heines IV	Gemüse	Germisan kn.
9	Euskirchen	Carstens VI	Zuckerrüben	Ceresan tr.
10	Euskirchen	Derenbg. Silb.	Zuckerrüben	Abavit neu kn.
11	Lethmathe	?	?	ungebeizt
12	Duderstadt	Criewener 192	?	Germisan kn.
13	Duderstadt	Criewener 192	?	Ceresan naß
14	Osterode	„Heines Winterweizen“	?	Germisan kn.
15	Stuttgart	Heges Basalt	?	?
16	Südbaden	Hohenwettersberg (Zwergbrand)	?	Ceresan
17	Südbaden	Trubilo (Zwergbrand)	?	Ceresan
18	Südbaden	Hohenwettersberg (Zwergbrand)	?	Ceresan
19a	Höchst	Carstens V	Standardherkunft Farbw. Höchst Ernte 1952	
19b	Höchst	Carstens V	wie 19 a, Ernte 1951	
20	Niederbayern	?		
21	Niederbayern	?		
22	Niederbayern	?	Die Herkünfte 20 bis 26 wurden 1950 von den Farbwerken Höchst wegen Befalls trotz Beizung gesammelt und dann ein Jahr ungebeizt vermehrt	
23	Niederbayern	Heines Koga (Sommerweizen)		
24	Niederbayern	Carstens V		
25	Niederbayern	Carstens V		
26	Niederbayern	Heines Koga (Sommerweizen)		

tr = Trockenbeize, kn = Kurznaßbeize, naß = Naßbeize

Insgesamt wurden für meine Untersuchungen 26 Herkünfte benutzt. Die von ihnen bekannten Daten sind in Übersicht 1 zusammengestellt. Man erkennt daraus, daß es sich um ein sehr heterogenes Material handelt, so daß die Wahrscheinlichkeit, verschieden reagierende Herkünfte zu bekommen, relativ groß war. Durch die Verteilung der Herkunftsorte über das ganze Bundesgebiet wurde die einseitige Betrachtung bestimmter Klima- und Anbauzonen vermieden. Ebenso sind die wichtigsten Wirtssorten vertreten. Die Beizung im Vorjahr war mit drei verschiedenen Quecksilberbeizmitteln im Trocken-, Kurznaß- und Naßverfahren erfolgt. Bei den

Nrn. 9, 12 und 14 wurde sie in amtlich überwachten Beizstationen durchgeführt, deren Leiter den zuständigen Pflanzenschutzämtern als besonders zuverlässig bekannt waren. In den anderen Fällen läßt sich die Sorgfalt der Beizung naturgemäß kaum beurteilen.

Die drei aus Süddeutschland übersandten Zwergsteinbrandherkünfte (Nr. 16, 17, 18) wurden nur vergleichsweise in die Untersuchung einbezogen. Die Herkünfte 19 bis 26 wurden von den Farbwerken Höchst zur Verfügung gestellt. Dabei stand von Nr. 19 Material der Ernten 1951 (19 a) und 1952 (19 b) zur Verfügung.

1. Laboratoriumsuntersuchungen

Im Jahre 1952 wurde in größeren Versuchsreihen festgestellt, daß entsprechend den oben angestellten Überlegungen die Beizmittelresistenz bei acht geprüften Herkünften (Nr. 19 b bis 26 der Übersicht 1) in keinem Falle so groß war, daß sich eine unterschiedliche Hemmung der Sporenkeimung mit Hilfe der üblichen Testzahlen (vgl. z. B. GASSNER und NIEMANN 1953) hatte erfassen lassen. Die hierzu benutzte, von STAUDERMANN[1]) (mündliche Mitteilung) entwickelte Methode wurde daher im folgenden Jahr etwas abgewandelt, um eine Zählung der gekeimten Sporen zu ermöglichen. Gleichzeitig wurde eine größere Zahl von Herkünften in die Untersuchung einbezogen und die Zahl der Wiederholungen der Einzelversuche erheblich erweitert.

Methodik

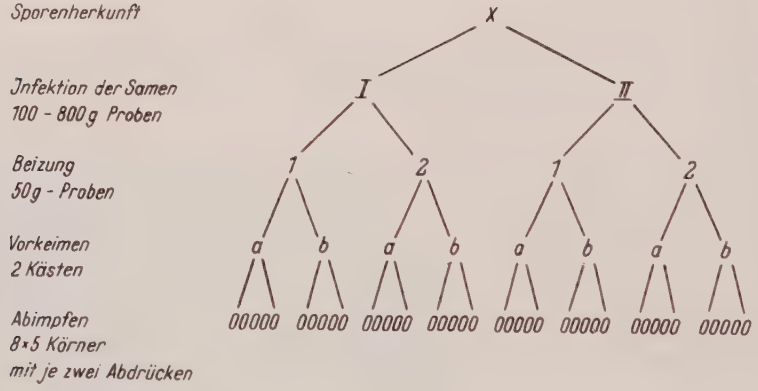
Der Vorgang der Sporenkeimung wurde in zwei Abschnitte getrennt: Die Auslösung der Keimung erfolgte am Korn, die eigentliche Keimung aber vom Korn getrennt. Die dem Versuchsziel entsprechend vorbehandelten Weizenkörner wurden in 16 × 16 × 5 cm große, mit einem Drahtnetzboden versehene Vorkeimkästen ausgelegt. Diese werden zuvor etwa 3 cm hoch mit grobem alten Gartenkompost gefüllt, weitere 0,5 bis 1 cm werden fein aufgesiebt (1,5 - mm - Sieb). Die Oberfläche glättet man mit einem passenden Holzstempel und feuchtet den Kasten mit Leitungswasser gut an (mit feiner Brause), läßt das Wasser ein bis zwei Stunden gut einziehen und

Abb. 1. Fertig vorbereiteter Vorkeimkasten

[1]) Herrn Dr. STAUDERMANN sowie den Farbwerken Hoechst sei an dieser Stelle für die Überlassung von Sporenmaterial sowie für die freundliche Unterstützung meiner Arbeit herzlich gedankt.

drückt dann die Körner flach ein, so daß sie mit der Bodenoberfläche abschließen. Die Oberfläche bedeckt man mit einem feuchten, nicht nassen Viskoseschwamm. Einen so vorbereiteten Kasten zeigt Abbildung 1. Die Kästen werden bei 16 ° C im Dunkeln aufgestellt. Am dritten Tage, nach etwa 60 Stunden, werden die Körner mit der Pinzette herausgenommen, und von jedem Korn mit dem Bartende zwei Abdrücke in reichtzeitig vorbereitete Schlämmerde gemacht (Schlämmerdebereitung vgl. GASSNER und RABIEN 1925). Die Aufstellung dieser Schalen erfolgte wiederum bei 16 ° C im Dunkeln. Nach weiteren zwei Tagen, also am fünften Tage nach Versuchsbeginn, sowie am siebenten und zehnten Tage wurden die Abdrücke im Binokular bei Auflicht (70fach vergrößert) auf Sporenkeimung untersucht und die gekeimten Sporen ausgezählt.

Um die Zählung zu ermöglichen, war es notwendig, sowohl die Beizmitteldosierung als auch den Bestäubungsgrad mit Sporen konstant zu halten. Da eine exakte Sicherung der Ergebnisse eine möglichst große Wiederholungszahl verlangte, konnte auch nicht mit mehreren Beizmitteln gearbeitet werden, um die Zahl der Versuchsgruppen nicht zu groß werden zu lassen. Es wurde daher mit 100 g Ceresan-Trockenbeize/dz Saatgut bei einem Sporenbestäubungsgrad von 8 ‰ gearbeitet. Die einzelnen Saatgutbehandlungen wurden jeweils zweimal unabhängig voneinander durchgeführt, so daß sich für eine beliebige Sporenherkunft X folgendes Versuchsschema ergab:



Von jeder Herkunft wurden also gleichzeitig jeweils 40 Samen (80 Abdrücke) untersucht. Die zusammengehörigen Abdrücke von fünf Körnern aller gleichzeitig verglichenen Herkünfte wurden in einer Petrischale vereinigt. Vorversuche hatten gezeigt, daß die Keimzahlen von einem Versuchstermin zum anderen unter Umständen stärker schwankten. Eine Herkunft (Nr. 1) wurde daher als Vergleichsherkunft (Standard) in jedem Versuch mitgeprüft. Zur statistischen Auswertung diente der t-Test (vgl. z. B. MUDRA 1952), die angegebenen P-Werte entstammen den von PÄTAU 1943 angegebenen Kurven.

Die Versuchsergebnisse

Die Keimzahlen aller Herkünfte wurden auf die der Standardherkunft bezogen. Sämtliche für letztere erhaltenen mittleren Keimzahlen sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Sie lassen zum Teil erhebliche Differenzen erkennen, die in mehreren Fällen nicht mehr als zufällige Abweichungen gedeutet werden können.

Tabelle 3

Mittlere Keimzahlen/Korn für die Vergleichsherkunft Nr. 1 bei Beizung mit 100 g Ceresan tr. je dz Saatgut in den verschiedenen Versuchsserien (Mittelwerte aus je 40 Samen = 80 Abdrücken)

Lfd. Nr. der Versuchsserie	Datum des Versuchs-Beginns	Mittlere Keimzahl $\bar{x}$	Mittlere Fehler $s_{\bar{x}}$	$s_{\bar{x}}$ in % von $\bar{x}$
	1953			
V	29. 1.	16,7	2,23	14,6
VII	13. 2.	29,6	2,46	8,8
VIII	28. 2.	73,6	7,25	9,9
IX	6. 3.	28,5	6,17	21,8
X	12. 3.	52,1	7,56	14,5
XI	21. 3.	21,8	1,98	8,9
XII a	11. 4.	55,0	6,10	11,1
XII b	11. 4.	72,8	6,84	9,4
XIII a	17. 4.	55,7	7,52	13,5
XIII b	17. 4.	45,6	5,28	11,6
XIII c	17. 4.	48,8	4,98	9,1
XIV	25. 4.	67,6	8,06	11,9
XV	15. 5.	12,8	1,58	12,3
XVI	23. 5.	22,6	3,29	14,6
XVII	29. 5.	11,3	2,98	26,6
XVIII	13. 6.	5,1	0,88	17,3

Das gilt z. B. für die Differenzen zwischen den Serien VII und VIII sowie VIII und IX. Daß es sich bei diesen Schwankungen nicht um Einflüsse jahreszeitlicher Art handeln kann, zeigt die Regellosigkeit der Keimzahlen, die keinerlei Beziehung zum Versuchsdatum erkennen lassen. Der extrem niedrige Wert der Serie XVIII läßt vielmehr vermuten, daß es sich um Temperatureinwirkungen handelt. Infolge eines technischen Fehlers war zwischen der zweiten und dritten Auszählung die Temperatur im Thermostaten auf 20 ° C angestiegen. Da nun die Feststellung der Keimzahlen aller Abdrücke in einer Petrischale je nach Umfang der Versuchsserie bis zu 1¼ Stunden in Anspruch nahm, waren die Schalen während dieser Zeit einer über 16 ° C liegenden, von der Außentemperatur abhängigen Labortemperatur ausgesetzt. Hier könnte also die Ursache für die erwähnten Differenzen zu suchen sein.

Die direkte Abhängigkeit von den während der Keimung, nicht aber während der Beizung herrschenden Bedingungen geht aus den Ergebnissen

der Serien XII und XIII hervor. In XII a waren die geprüften Körner den bereits zu XI gebeizten Proben entnommen worden und hatten somit schon drei Wochen vor Sonne geschützt bei Labortemperatur in verkorkten Glasflaschen gebeizt gelagert. In Serie XII b dagegen fanden frisch gebeizte Samen aus den zu Serie XI mit Sporen bestäubten Proben Verwendung. Diese unterschiedliche Behandlung blieb jedoch ohne wesentlichen Einfluß auf das Versuchsergebnis, da die Differenz zwischen den Keimzahlen noch innerhalb des zufälligen Schwankungsbereiches lag (P = 6 %).

In Serie XIII wurden zur weiteren Prüfung dieser Zusammenhänge die gebeizten Proben der Serien V, VII und VIII, deren mittlere Keimzahlen stark differierten, zu einem Vergleichsversuch benutzt. Wie die Keimzahlen von XIIIa—c erkennen lassen, zeigen, ganz unabhängig von den ursprünglichen Werten, die Mittelwerte und Streuungen so gute Übereinstimmung, daß sich die Angabe weiterer statistischer Maßzahlen hier erübrigt.

Aus diesen Ergebnissen ist zu schließen, daß nur die Keimzahlen gleichzeitig durchgeführten Versuche unmittelbar miteinander vergleichbar sind, und auf die Standardherkunft folglich nicht verzichtet werden kann. In allen folgenden Tabellen sind daher nur die entsprechend umgerechneten Keimzahlen aufgeführt worden. Für die Beurteilung der Methode mag schließlich noch darauf hingewiesen werden, daß die in Tabelle 3 angegebenen mittleren Fehler in Prozent des Mittelwertes im allgemeinen eine gute Konstanz zeigen. Läßt man die beiden extrem hohen Werte der Serien IX und XVII außer Betracht, so ergibt sich eine gute Gruppierung der Werte um das Gesamtmittel von 12 %. Wir dürfen daraus schließen, daß die Genauigkeit der Methode hiermit offenbar erschöpft war. Versuchsserien, in denen dieser Wert jedoch wesentlich überschritten wird, können nur unter Vorbehalt ausgewertet werden.

In Auswertung dieser Ergebnisse sind in Tabelle 4 die mittleren, relativen, auf die Standardherkunft bezogenen Keimzahlen aller Herkünfte, geordnet nach fallendem Mittelwert, aufgeführt. Sie wurden durch Zusammenfassung von allen ermittelten Keimzahlen jeder Herkunft und deren Vergleich mit allen gleichzeitig ermittelten und zusammengefaßten Werten der Standardherkunft errechnet. Die Nummern der jeweiligen Versuchsserien sind in Spalte 6 angegeben.

Die mittleren Keimzahlen umfassen einen relativ weiten Bereich (0 bis 182). Die Abweichungen von denen der Standardherkunft sind dabei in zahlreichen Fällen so groß, daß die statistischen Sicherheitsgrenzen zum Teil weit überschritten wurden. Mit Hilfe der in Spalte 5 angegebenen P-Werte lassen sich drei Gruppen von Herkünften bilden, die in der Tabelle durch Querstriche getrennt sind. Die Mittelwerte der ersten Gruppe dürfen als gesichert größer, die der dritten als gesichert kleiner gegenüber der Standardherkunft angesehen werden, während die Werte der mittleren Gruppe von ihr nur innerhalb des zufälligen Schwankungsbereiches abweichen.

Eine alleinige Beurteilung dieser Werte mit Hilfe statistischer Maßzahlen konnte aber nicht voll befriedigen. Es muß in diesem Zusammenhang

daran erinnert werden, daß es sich bei den ermittelten Keimzahlen nicht um Prozentwerte, sondern um die absolute Zahl gekeimter Sporen handelt, die, gemessen an der Gesamtsporenzahl, nur gering ist. Die Reproduzierbarkeit der gefundenen Differenzen mußte daher besonders eingehend geprüft werden. Zu diesem Zweck wurde die Untersuchung mehrerer Herkunftskombinationen zu verschiedenen Zeiten wiederholt. Es sind dies diejenigen, bei denen in Spalte 6 der Tabelle 4 mehrere Serien angegeben sind. Von wenigen Abweichungen abgesehen, wurden bei diesen Untersuchungen die in Tabelle 4 wiedergegebenen Versuchsergebnisse voll bestätigt, so daß auf die Wiedergabe dieser Werte hier verzichtet wurde. Sie finden sich in der eingangs zitierten Dissertation.

Tabelle 4

Die relativen Keimzahlen von 17 Steinbrandherkünften, bezogen auf die Keimzahlen von Nr. 1 (= 100), und die statistische Sicherung der gegen Nr. 1 auftretenden Differenzen

Lfd. Nr. der Herkunft	Zahl der geprüften Körner	mittlere relative Keimzahl	mittlerer Fehler $s_{\bar{x}}$	Überschreitungswahrscheinlichkeit P (%)	Nr. der beteiligten Vers.-Serien
6	120	182	12,0	< 0,02	XI, XIIa, b
22	40	177	21,4	< 0,02	XVI
13	280	173	10,0	< 0,02	V, XI, XII, XIII XIV, XV
7	80	118	8,4	nicht ges.	VIII, XIV
3	80	117	12,4	nicht ges.	IX, XIV
1	640	100			
9	40	91	12,5	nicht ges.	XI
2	40	88	14,3	nicht ges.	VII
8	40	87	9,7	nicht ges.	VIII
19a	120	66	7,0	0,7	X, XIV, XVI
21	40	61	8,1	1,8	XVI
14	120	61	4,7	< 0,02	VIII, XIII, XIV
12	80	57	5,5	< 0,02	VII, XIII
11	120	56	7,5	< 0,02	IX, XV, XVII
4	40	48	6,7	0,15	X
5	40	40	5,6	0,07	X
20	40	31	4,5	< 0,02	XVI

Wir können also feststellen, daß die verwendete Methodik eine Ermittlung der relativen Beizmittelresistenz verschiedener Herkünfte gegenüber unterdosierter Ceresanbeizung ermöglichte. Die in Tabelle 4 zusammengestellten Mittelwerte dürfen innerhalb gewisser Grenzen als sicher angesehen werden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Abbildung 2 noch einmal zusammengefaßt.

Wiederum sind die Herkünfte nach fallendem Mittelwert geordnet, wobei die Mittelwerte durch die Höhe der schraffierten Säulen und die zugehörigen mittleren Fehler durch Querstriche markiert wurden. Die Einteilung in drei Gruppen tritt auch hier deutlich hervor. Während die Gruppen I und II durch ihre Einheitlichkeit auffallen, unterscheiden sich in Gruppe III die extremen Werte deutlicher. Man darf daher wohl erwarten, bei genügender Herkunftszahl auch die fehlenden Zwischenwerte zu finden.

Wie die stichprobenmäßige Prüfung einiger Herkünfte ergab, traten diese Herkunftsunterschiede bei erhöhter Beizmitteldosierung mehr und mehr zurück und waren bei 175 g Beizmittel je dz Saatgut nicht mehr nachweisbar. Da sich dabei keine neuen Gesichtspunkte ergaben, wurde auf die Prüfung weiterer Dosierungsstufen verzichtet.

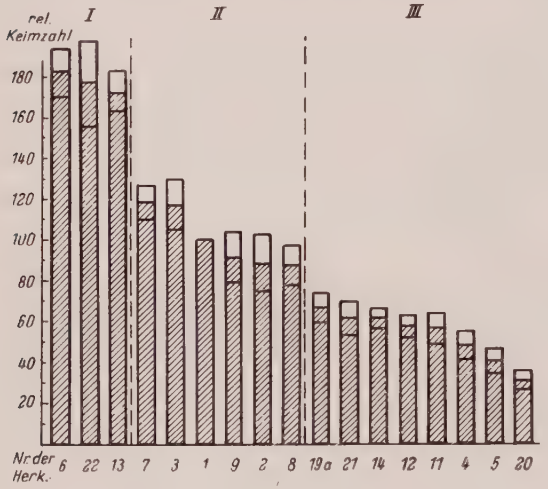


Abb. 2. Relative mittlere Keimzahlen von 17 Herkünften (schraffierte Säulen) mit den zugehörigen mittleren Fehlern (Querstriche), bezogen auf die Vergleichsherkunft Nr. 1 gleich 100. Einteilung in drei Gruppen verschiedener Beizmittelresistenz. Beizung mit 100 g Ceresan/dz Getreide

Macht man den Versuch, die unterschiedliche Beizmittelresistenz der Herkünfte zu den über sie in Übersicht 1 gemachten Angaben in Beziehung zu setzen, so lassen sich keine Anhaltspunkte für irgendwelche Zusammenhänge finden. Für das Keimverhalten der Sporen bei Beizung sind also offenbar die Umwelteinflüsse des Vorjahres ohne Bedeutung. Die Frage nach den Ursachen dieser unterschiedlichen Beizmittelresistenz, insbesondere ob dabei die Selektion durch Beizmittel eine Rolle gespielt hat, läßt sich auf Grund der vorliegenden Ergebnisse nicht beantworten. Hierüber können nur langjährige Selektionsversuche Aufklärung geben, die im Rahmen meiner Untersuchungen jedoch nicht durchführbar waren.

Für die Beurteilung der Bedeutung der gefundenen Beizmittelresistenz ist die Feststellung wichtig, daß unter den geprüften 20 Herkünften keine gefunden wurde, deren Sporen noch nach normaler Beizung mit 200 g/dz im Laborversuch bei 16 ° C und unter den beschriebenen Bedingungen in nennenswertem Maße keimten. Deutliche Unterschiede machten sich nur bei Unterbeizung mit 100 g Ceresan/dz bemerkbar. Steinbrandbefall trotz Beizung als Folge von Beizmittelresistenz der betreffenden Herkunft wäre daher im praktischen Anbau auch nur nach Unterbeizung zu erwarten, mit der freilich unter Praxisbedingungen gerechnet werden muß. Die Frage wurde daher in einem Feldversuch weiter untersucht.

2. Herkunftsprüfungen im Feldversuch

Die Versuchsanlage:

Um einen direkten Vergleich der Ergebnisse des Feldversuches mit denen der gleichzeitig durchgeführten Laboruntersuchungen möglichst zu erleichtern, wurde weitgehend auf das gleiche Versuchsmaterial zurückgegriffen. Von den in Übersicht 1 beschriebenen Herkünften wurden 22 in den Feldversuch aufgenommen. Aus demselben Grunde wurde der Sporenbesatz dem Laborversuch entsprechend mit 8 ‰ bemessen. Die relativ große Zahl von Herkünften machte eine Beschränkung der übrigen zu prüfenden Faktoren unerläßlich. Es wurden daher nur die beiden Trockenbeizmittel Ceresan und Tritisan aufgenommen, um wenigstens diese unterschiedlichen Wirkstoffe miteinander vergleichen zu können. Die Beizmitteldosierungen mußten mehrfach abgestuft werden, um möglichst einen Befall zu erzielen, der einerseits gegenüber den ungebeizten Teilstücken deutlich herabgesetzt war, sich aber andererseits keinesfalls zu stark dem Wert 0 näherte. Es wurden neben den Kontrollen die Dosierungen 50, 100 und 200 g Beizmittel/dz Saat gewählt. Von einer Überdosierung wurde abgesehen, da nach den Ergebnissen der Laboruntersuchungen mit einer so bedeutenden Resistenz nicht zu rechnen war.

Als Wirtssorte wurde wiederum Carstens V - Winterweizen gewählt. Dadurch wurde einmal der von Feucht 1932 nachgewiesenen Möglichkeit einer sortenbedingten Beeinflussung der Sporenkeimung bei der Keimung der Samen Rechnung getragen, zum anderen erschien Carstens V auch deshalb vorteilhaft, weil mehrere der Brandherkünfte von dieser Sorte stammten und sich so vielleicht eine Möglichkeit zur Beurteilung des Sorteneinflusses auf die Pathogenität bot. Das Saatgut wurde ungebeizt aus dem Handel bezogen und äußerlich nicht sterilisiert, da es sich bei der mikroskopischen Prüfung von Stichproben als brandfrei erwies und ein der Beobachtung eventuell entgangener minimaler Sporenbesatz für das Versuchsergebnis bedeutungslos gewesen wäre.

Der Versuch wurde auf einer Parzelle von 45 × 70 m auf dem Versuchsfeld in Bonn-Poppelsdorf angelegt, das durch einen milden Lößlehm gekennzeichnet ist. Als Vorfrucht standen 1952 Zuckerrüben; 1951 war der Schlag geteilt: Auf der einen Hälfte stand vom Herbst 1950 an Winterkohl, anschließend im Sommer 1951 Spinat, während die andere Hälfte über Winter brach lag und 1951 Sellerie trug. In den weiter zurückliegenden Jahren war das Feld einheitlich bearbeitet worden. Auf dem gesamten Versuchsfeld war der Weizenanbau seit mindestens zehn Jahren ausgesetzt, auch wurden in dem genannten Zeitraum keine Feldversuche mit *Tilletia* durchgeführt, so daß eine Bodenverseuchung ausgeschlossen war.

Als Zahl der geprüften Versuchskombinationen ergibt sich 176, und zwar 22 Herkünfte × 2 Beizmittel × 4 verschiedene Saatgutbehandlungen (Kontrollen sowie die 50-, 100- und 200-g-Beizmitteldosierungen). Jede der Versuchsnummern wurde vierfach wiederholt mit Ausnahme derjenigen der Herkünfte 10, 15 und 17 (zweifach), da hier nicht genügend Sporenmaterial

zur Verfügung stand. Als Gesamtparzellenzahl ergab sich somit 656. Die Aussaatstärke betrug 25 g/3 m²-Parzelle mit etwa 550 Samen. Die Düngung beschränkte sich auf eine Frühjahrsgabe von 1,5 dz/ha Kalkammonsalpeter.

Bei der Festlegung des Aussaatplanes wurde darauf Rücksicht genommen, daß die Auswertung mit Hilfe der Varianzanalyse erfolgen sollte. Um dabei trotz der großen Parzellenzahl eine Kontrolle der Bodenfaktoren zu ermöglichen, wurden die vier Wiederholungen a—d der nebenstehenden Skizze entsprechend angelegt, wobei in jeder Wiederholung die verschiedenen Parzellen zufällig verteilt waren. Infolge der ungleichen Wiederholungszahlen der Herkünfte umfaßten die Wiederholungen a und b je 176 Parzellen von 22 Herkünften, c und d je 152 Parzellen von 19 Herkünften.

d	c
b	a

Die Aussaat konnte wegen einer Schlechtwetterperiode erst am 21. November 1952 erfolgen. Dieser späte Saattermin dürfte weitgehend für die relativ niedrigen Befallszahlen verantwortlich sein (vgl. Tab. 5), da bereits zehn Tage nach der Aussaat eine Frostperiode einsetzte, welche die Entwicklung von Wirt und Parasit hemmte. In einer folgenden frostfreien Periode zwischen dem 17. und 30. Dezember waren die Reihen bereits schwach erkennbar, und auch die Sporenkeimung hatte begonnen. Eine erneute Frostperiode begrenzte das Wachstum wieder, so daß der Auflauf des Getreides sich zum Teil bis zum endgültigen Temperaturanstieg Anfang März hinzog. Die Infektionsverhältnisse waren also ungünstig, wie auch RABIEN (1927) bei Spätsaat feststellen konnte.

Die Versuchsauswertung:

Für die Versuchsauswertung wurden in der zweiten Julihälfte 1953 die Zahl steinbrandkranker Ähren sowie die Gesamtährenzahl jeder Parzelle festgestellt. Eine vollständige Auswertung dieser Werte war nur varianzanalytisch möglich, da die mittleren Befallszahlen der verschiedenen Herkünfte nur innerhalb verhältnismäßig enger Grenzen voneinander abwichen, und zudem die Wirkungen mehrerer Faktoren einschließlich der Wechselwirkungen zu analysieren waren.

Mit der Anwendung der Varianzanalyse im Pflanzenschutzversuch hat sich besonders WENZL (1949, 1952) eingehender auseinandergesetzt und nachdrücklich auf die möglichen Fehlerquellen hingewiesen, die zu groben Fehlschlüssen führen können (vgl. hierzu auch SNEDECOR 1946). Sie lassen sich vermeiden, wenn die Streuungen der einzelnen Versuchsgruppen sich statistisch nicht voneinander unterscheiden (Homogenität der Streuungen) und keine Korrelationen zwischen Mittelwerten und Streuungen bestehen.

Die Prüfung auf Homogenität wurde durch Berechnung der Sicherheitsgrenzen vorgenommen (vgl. LEIN 1951), und alle Mittelwerte, deren Streuung von der mittleren Streuung stärker abwich als bei einem Homogenitätsbereich von 95 % zulässig, blieben in der Berechnung unberücksichtigt. Sie sind in den folgenden Tabellen entsprechend markiert. Zur Prüfung auf das Vorliegen der genannten Korrelation genügt die Aufstellung eines Punktediagramms (LINDER 1951). Es ergab erwartungsgemäß Mittelwert-

Streuungs-Korrelationen, die sich durch Transformation der Prozentwerte in die arc-sin-Funktion (Tabelle nach Bliss bei Snedecor 1946) nur innerhalb jeder Dosierungsstufe beseitigen ließen. Der Versuch mußte daher in vier getrennten Varianzanalysen für die Kontrollen und die drei Dosierungsstufen ausgewertet werden.

Die statistische Sicherung der Mittelwertsdifferenzen wurde mit Hilfe der Grenzdifferenz beurteilt, wobei dem Beispiel Linders folgend, Differenzen mit einem P-Wert < 1 als gesichert und > 5 als zufällig angesehen wurden. In dem dazwischenliegenden Bereich wurden sie von Fall zu Fall beurteilt. Auf die Wiedergabe aller Einzelwerte sowie die Darstellung der verschiedenen Varianzanalysen mußte hier verzichtet werden. Sie sind in der genannten Dissertation zugänglich.

Die Versuchsergebnisse

Die mittleren Befallszahlen in ‰ aus den vier bzw. zwei Wiederholungen der verschiedenen Versuchsnummern sind in Tabelle 5 wiedergegeben.

Tabelle 5

Der durch 22 verschiedene Brandherkünfte hervorgerufene Steinbrandbefall in ‰,
ohne und mit Beizung mit zwei Beizmitteln in drei verschiedenen Dosierungen.
Gebeizte Proben vier, Kontrollen acht Wiederholungen, in ( ) gesetzte Herkünfte nur mit der halben Wiederholungszahl

Lfd. Nr. der Herkunft	Kontrolle	Ceresan g/dz				Tritisan g/dz			
		50	100	200	$\bar{x}$	50	100	200	$\bar{x}$
1	201	72	30	12	38	38	12	1	17
2	215	67	22	17	35	122	11	1	45
4	206	122	78	14	71	72	16	1	30
7	79	38	23	4	21	25	9	0	11
8	112	44	13	4	20	33	21	0	18
9	163	71	10	21	34	39	16	1	19
(10)	86	69	24	1	31	19	4	0	8
11	185	76	26	6	36	57	16	1	25
12	189	121	54	18	64	97	11	2	37
13	115	78	21	4	34	44	9	2	18
14	132	38	12	5	18	51	13	2	22
(15)	58	17	2	11	10	8	4	0	4
16 (Zwergbrand)	1	0	0	0	0	0	0	0	0
(17) (Zwergbrand)	4	1	0	0	0	0	0	0	0
19b	293	71	51	14	45	75	32	3	37
20	154	61	70	9	47	29	17	2	16
21	255	62	34	8	34	63	24	1	29
22	82	48	13	6	22	20	5	0	8
23	78	34	11	4	16	4	2	0	2
24	208	118	57	4	60	99	16	3	39
25	213	170	33	6	69	54	29	3	29
26	114	23	9	4	12	28	2	80	37

Von der rechnerischen Einzelauswertung wurden folgende Herkünfte ausgeschlossen: 10 und 15, da nur zwei Wiederholungen vorlagen; 16 und 17, da kein Befall auftrat (Zwergbrand); 26, da für den unerklärlich hohen Befall bei 200 g Tritisan-Beizung nur ein Versuchsfehler verantwortlich sein konnte.

Die Darstellung folgt nun den einzelnen wirksam gewordenen Versuchsfaktoren: Versuchsfeldeinflüsse, Beizmittel und Pathogenität der Herkünfte.

Die Versuchsfeldeinflüsse

Die Art der Versuchsanlage erlaubte die Feststellung von Versuchsfeldeinflüssen auf den Brandbefall. Tabelle 6, in welcher die Lage der vier Wiederholungen und ihr mittlerer Befall zusammengestellt sind, gibt darüber Aufschluß.

Wie man erkennt, war der Befall in der linken Versuchsfeldhälfte dem in der rechten deutlich überlegen, eine Feststellung, die sich auch statistisch leicht belegen ließ. Für die Differenz 77,7 — 53,9 = 23,8 ergab sich eine eindeutige Sicherung ($P < 1\ \%$), die Abweichung 67,8 — 63,9 = 3,8 muß dagegen als zufällig angesehen werden.

Tabelle 6

Mittlerer Befall der Wiederholungen a bis d und ihre Lage im Versuchsfeld

d 81,2	c 54,3	$\bar{x}$ 67,8
b 74,2	a 53,5	$\bar{x}$ 63,9
$\bar{x}$ 77,7	$\bar{x}$ 53,9	$\bar{x}$ 65,8

Diese Versuchsfeldwirkung läßt sich nicht nur bei Betrachtung des Gesamtversuches zeigen, sondern sie kommt auch bei allen möglichen Unterteilungen, also in den Kontrollen ebenso wie in den Beizparzellen mit Ceresan oder Tritisan in den verschiedenen Dosierungen gleichartig gesichert zur Geltung. Da auf dem sonst sehr gleichmäßigen Versuchsfeld irgendwelche Unterschiede in der Wüchsigkeit des Weizens nicht beobachtet wurden, bleibt als einzige Erklärung für diese Versuchsfeldeinwirkung die bereits erwähnte Teilung des Feldes im Jahre 1951. Es handelt sich also möglicherweise um eine Vorfruchtwirkung über die nachgebauten Zuckerrüben hinaus, was für eine starke Abhängigkeit des Steinbrandbefalls von veränderten Bodenverhältnissen sprechen würde (vgl. auch FEUCHT 1932). Interessant ist hier besonders, daß diese Abhängigkeit trotz Beizung erhalten und nachweisbar blieb.

Die Wirksamkeit der Beizmittel

Die Anwendung zweier Beizmittel mit verschiedenen Wirkstoffgruppen bot die Möglichkeit zu deren eingehendem Vergleich. Das Ergebnis gibt Abbildung 3 mit den Wirkungskurven der beiden Mittel wieder. Das umfang-

reiche Versuchsmaterial (jeder Kurvenpunkt ist ein Mittelwert aus 72 Parzellen mit etwa 70 000 Ähren) führte zu dem gleichmäßigen Kurvenverlauf, der die durchgehende Überlegenheit des Tritisan eindeutig demonstriert.

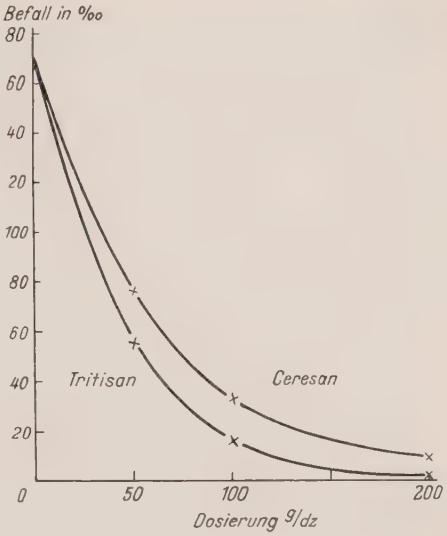


Abb. 3. Die Wirkungskurven der Beizmittel Ceresan tr. und Tritisan

Die Pathogenität der Herkünfte

Im Gegensatz zu der leicht erkennbaren Beizmittelwirkung kann das unterschiedliche Verhalten der Herkünfte nur mit Hilfe statistischer Maßzahlen kritisch beurteilt werden. Die Ergebnisse werden hier für die Kontrollen und die einzelnen Dosierungen getrennt besprochen, unter gleichzeitiger Zusammenfassung der Werte für Ceresan und Tritisan. Zur Darstellung der Ergebnisse wurden die jeweils verglichenen Mittelwerte in unvollständigen n × n-Tafeln zusammengefaßt, in denen die statistische Sicherheit jeder Differenz durch Zeichen markiert ist. Alle derartigen Tabellen sind wie folgt aufgebaut:

In der ersten Zeile stehen die abgerundeten mittleren Befallszahlen in Prozent der nach fallender Pathogenität waagerecht und senkrecht angeordneten Herkünfte. Bei den Herkünften 10 und 15 und denen, die wegen zu großer Streuung von der Berechnung ausgeschlossen wurden, stehen die Werte in Klammern. Die für die Differenz zwischen zwei Mittelwerten

Tabelle 7

Statistischer Vergleich der mittleren Befallszahlen für die Kontrollparzellen von 20 Herkünften

$\bar{x}$ %	29	26	22	21	21	21	20	19	19	16	15	13	12	11	11	(9)	8	8	8	(6)
Lfd. Nr. d. Herk.	19 b	21	2	25	24	4	1	12	11	9	20	14	13	26	8	(10)	22	7	23	(15)
19 b			x	x	x	x	o	o	o	–	–	–	–	–	–		–	–	–	
21								x	x	o	o	–	–	–	–		–	–	–	
2											x	o	–	–	–		–	–	–	
25												x	o	o	o		–	–	–	
24												x	o	o	o		–	–	–	
4												x	o	o	o				-	
1												x	o	o	o		..	.	..	
12													x	x	x		–	–	–	
11													x	x	x		–	–	–	
9																	o	o	o	
20																	x	x	x	

geltende statistische Sicherheit (P-Wert) von < 5, < 1 oder $< 0{,}1$ % ist durch die Zeichen x, 0 und — markiert (Tab. 7—11). Die Werte für die Kontrollparzellen gibt Tabelle 7 wieder.

Aus ihr kann man entnehmen, daß die Herkünfte sich in ihrer Pathogenität zum Teil sehr deutlich unterscheiden. Gleichzeitig zeigt die Mittelwertsreihe, daß der Übergang von der starken über die mittlere zur schwachen Pathogenität offenbar kontinuierlich verläuft, und man bei genügender Herkunftszahl erwarten darf, alle Zwischenwerte zu finden. Auf eine Einteilung in abgegrenzte Pathogenitätsgruppen wurde daher verzichtet. Hervorzuheben ist hier noch die Herkunft 19 b, die mit ihrer besonders hohen Pathogenität eine Sonderstellung einnimmt (Befall fünfmal höher als bei Herkunft 15).

Die Ursache für diese unterschiedliche Pathogenität kann nur in der verschiedenartigen „Vorgeschichte" der Herkünfte zu suchen sein. Bei Vergleich mit den Angaben aus Übersicht 1 ergibt sich eine gewisse Abhängigkeit der Pathogenität von der Wirtssorte des Vorjahres, die durch die Zusammenstellung in Übersicht 2 zum Ausdruck kommt.

Übersicht 2

Die Pathogenität der Herkünfte in Abhängigkeit von der Wirtssorte des Vorjahres

Lfd. Nr. der Herkunft	mittlerer Befall in %	Wirtssorte des Vorjahres	Lfd. Nr. der Herkunft	mittlerer Befall in %	Wirtssorte des Vorjahres
19b	29	Carstens V	20	15	unbekannt
21	26	unbekannt	14	13	Heines Wi. W.
2	22	Carstens VI	13	12	Criewener 192
25	21	Carstens V	26	11	Heines Koga S.W.
24	21	Carstens V	8	11	Heines IV
4	21	Taca	10	9	Derenbg. Silb
1	20	Derenbg. Silb.	22	8	unbekannt
12	19	Criewener 192	7	8	Strengs Masch.
11	19	unbekannt	23	8	Heines Koga S.W.
9	16	Carstens VI	15	6	Heges Basalt

Demnach gehören eindeutig die Herkünfte von Carstens V alle zu den am stärksten pathogenen des Sortiments. Die bereits experimentell erreichte selektive Anpassung des Parasiten an den Wirt (DILLON-WESTON 1932, ROEMER und BARTHOLLY 1933) hat sich somit auch unter den Bedingungen des praktischen Anbaus ergeben. Auch die Sonderstellung der Herkunft 19 b läßt sich nun erklären. Sie war auf dem Höchster Versuchsfeld jahrelang über Carstens V vermehrt worden und konnte somit eine besonders hohe Pathogenität gegenüber dieser Sorte erreichen. Ein recht einheitliches Befallsbild geben auch die Herkünfte aus den Heineschen Sorten, die alle zu den schwach pathogenen des Sortiments gehören. Bei der Beurteilung der schlecht übereinstimmenden Befallszahlen der Herkünfte aus Criewener 192 und Derenburger Silber-

weizen ist darauf hinzuweisen, daß die selektive Anpassung nur progressiv über mehrere Jahre erfolgt (Roemer und Bartholly 1933) und in ihrer Wirksamkeit außerdem von der Zusammensetzung der Ausgangspopulation abhängt. Größere Pathogenitätsunterschiede sind damit erklärbar. Insgesamt darf man jedenfalls feststellen, daß die Wirtssorte des Vorjahres für die Pathogenität einer Steinbrandherkunft auch unter den Verhältnissen der Praxis eine entscheidende Rolle spielt.

Auch bei der Beizung mit der 50-g-Dosierung ließen sich, wie Tabelle 8 zeigt, Pathogenitätsunterschiede zwischen den Herkünften statistisch nachweisen.

Tabelle 8

Die Pathogenität von 19 Herkünften nach Beizung mit zwei Beizmitteln (Tritisan und Ceresan), Dosierung 50 g/dz

$\bar{x}$ %	11	(11)	11	10	(9)	7	7	6	6	6	6	5	5	(4)	3	3	2	2	(1)
Lfd. Nr. d. Herk.	25	(12)	24	4	(2)	19 b	11	21	13	9	1	20	14	(10)	8	22	7	23	(15)
25								x	x	x	x	o	o		–	–	–	–	
(12)																			
24								x	x	x	x	o	o		–	–	–	–	
4												x	x		o	–	–	–	
(2)																			
19 b																x	x	–	
11																x	x	–	
21, 13, 9 und 1 jeweils																		x	

Wieder fallen die relativ großen, gut gesicherten Differenzen zwischen den Extremen auf, wenn die Trennung auch weniger scharf ist als bei den Kontrollparzellen. Es ist dies wohl darauf zurückzuführen, daß hier nur vier Wiederholungen vorlagen, an Stelle von acht bei den Kontrollen.

Tabelle 9

Die Pathogenität von 19 Herkünften nach Beizung mit Ceresan Dosierung 100 g/dz

Mittlerer Befall ‰	78	(70)	(57)	54	51	34	33	30	26	(24)	23	22	21	13	13	12	11	10	(1)
Lfd. Nr. der Herkunft	4	(20)	(24)	12	19b	21	25	1	11	(10)	7	2	13	22	8	14	23	9	(15)
4 (20) (24)						o	o	o			–	–	–	–	–	–	–	–	
12									x		o	o	o	–	–	–	–	–	
19 b									x		o	o	o	–	–	–	–		
21														x	x	x	x	o	
25														x	x	x	x	o	
1														x	x	x	x	o	

Tabelle 10

Die Pathogenität von 19 Herkünften nach Beizung mit Tritisan
Dosierung 100 g/dz

Mittlerer Befall ‰	32	29	24	21	(17)	16	16	16	(16)	13	12	11	11	9	9	5	(4)	(4)	(2)
Lfd. Nr. der Herkunft	19b	25	21	8	(20)	11	4	9	(24)	14	1	12	2	7	13	22	(15)	(10)	(23)
19b										x	x	x	x	x	x	–			
25										x	x	x	x	x	x	–			
23																o			
8																x			

Der Herkunftsvergleich bei Beizung mit der 100-g-Dosierung war infolge der hier bereits sehr niedrigen Befallszahlen nach Tritisanbeizung nur für die beiden Beizmittel getrennt zulässig, so daß seine Ergebnisse hier auch getrennt für Ceresan und Tritisan in den Tabellen 9 und 10 dargestellt sind.

Wegen der niedrigen Befallszahlen sind hier in beiden Tabellen die Mittelwerte in ‰ angegeben. Dabei lassen sich bei Ceresanbeizung noch Herkünfte unterschiedlicher Pathogenität trennen, während bei Tritisanbeizung diese Möglichkeit nicht mehr eindeutig besteht. Die stärkere fungizide Wirksamkeit des Tritisans bewirkt also offenbar bereits bei einer Dosierung von 100 g/dz auch bei hochpathogenen Herkünften eine so starke Einschränkung des Befalls, daß eine statistische Trennung nicht mehr möglich ist.

Bei weiterer Erhöhung der Beizmittelmenge auf die Dosierung von 200 g/dz blieben die Tritisanparzellen praktisch völlig befallsfrei, so daß nur noch die Werte der Ceresanparzellen statistisch bearbeitet wurden. Das Ergebnis gibt Tabelle 11 wieder.

Tabelle 11

Die Pathogenität von 19 Steinbrandherkünften
nach Beizung mit Ceresan
Dosierung 200 g/dz

Mittlerer Befall ‰	(21)	18	17	14	14	12	(11)	9	8	6	6	6	5	4	4	4	4	4	(1)
Lfd. Nr. der Herkunft	(9)	12	2	4	19b	1	(15)	20	21	25	22	11	14	13	23	7	24	8	(10)
(9)													o	o	o	o	o	o	
12									x	x	x	x	x	o	o	o	o	o	
2													x	x	x	x	x	x	
4																			

Hier zeigt sich, daß auch bei normaler Dosierung des Beizmittels sich die Herkünfte noch nach ihrer Pathogenität unterscheiden lassen, wenn auch

die Befallszahlen infolge der Beizmittelwirkung jetzt wesentlich enger zusammengerückt sind.

Es hat sich also in diesem Feldversuch der Nachweis erbringen lassen, daß die untersuchten Herkünfte auch nach Beizung noch unterschiedliche Pathogenitätseigenschaften zeigen. Zur zusammenfassenden Beurteilung dieser Verhältnisse wurden alle bisherigen Ergebnisse in Übersicht 3 noch einmal zusammengestellt.

Übersicht 3

19 Herkünfte in der Reihenfolge ihrer Pathogenität, getrennt nach Kontrollen, Beizmitteln und Dosierungen (Erläuterungen siehe Text)

Behandlung	→ abnehmende Pathogenität →
T 200	Befall bei allen Herkünften unter 0,3 %
T 100	19b 25 21 8 20 11 4 24 9 14 1 12 2 7 13 22 (15) (10) 23
T 50	(2) 24 (12) 19b 4 21 11 25 14 13 9 1 8 20 7 22 (10) (15) 23
Kontrollen	19b 21 2 25 24 4 1 12 11 9 20 14 13 8 (10) 22 7 23 (15)
C 50	25 4 12 24 13 11 1 19b 9 (10) 2 21 20 22 8 7 14 23 (15)
C 100	4 (20) (24) 12 19b 21 25 1 11 (10) 7 2 13 22 8 14 (23) 9 (15)
C 200	(9) 12 2 4 19b 1 (15) 20 21 25 22 11 14 13 23 7 24 8 (10)

Wiederum wurden die Herkünfte eingeklammert, deren Mittelwerte infolge übermäßiger Streuung unzuverlässig waren. Die für den P-Wert bereits benutzten Zeichen x und o sind so eingefügt, daß die jeweils in Pfeilrichtung von ihnen angeordneten Herkünfte sich höchstens mit einer Überschreitungswahrscheinlichkeit von 1 bzw. 5 % unterscheiden, d. h. ihrer Pathogenität nach übereinstimmen. Herkünfte mit eindeutig geringer Pathogenität bei allen Behandlungen müssen also rechts von den oberen Markierungen angeordnet sein. Es sind dies die Nrn. 23, 10, 15, 22, 13, 7, und 14. Hinzu kommen noch 1 und 9, wenn man diese Forderung auf die Ergebnisse bei Beizung beschränkt.

Umgekehrt müssen die stark pathogenen Herkünfte links von den unteren Markierungen zu finden sein. Diese

Forderung wird im strengen Sinn nur von der Herkunft Nr. 4, bei Beschränkung auf die gebeizten Proben noch von Nr. 12 erfüllt. Unter Beachtung der genannten Feststellung, daß es sich hier nie um begrenzte Pathogenitätsgruppen handelt, dürfen jedoch auch Nr. 21, 25, 24 und 19 b hier genannt werden. Die restlichen Herkünfte Nr. 2, 11, 20 und 8 liegen im beiderseitigen Schwankungsbereich.

Damit hat sich im allgemeinen eine Anordnung ergeben, wie sie bereits bei den Kontrollparzellen vorlag. Es wurde jedenfalls keine Herkunft gefunden, die sich in den Kontrollen als schwach, bei Beizung dagegen als hochpathogen erwiesen hätte. Dennoch sind einige auffällige Verschiebungen zu bemerken: Die drei von Carstens V stammenden Herkünfte 19 b, 25 und 24 haben die in den Kontrollen besonders bei 19 b auffallende hohe Pathogenität in den gebeizten Gruppen teilweise eingebüßt. Dagegen haben 4 und 12 von Taca bzw. Criewener 192 bei Ceresanbeizung eine Stellung gewonnen, wie sie nach Beurteilung der Kontrollparzellen zunächst nicht zu erwarten war. Bei den in den Kontrollen schwach pathogenen Herkünfte sind keine derartigen Verschiebungen zu beobachten.

Um die Bedeutung dieser Abweichungen der Pathogenität bei Beizung von der bei den Kontrollen kritisch werten zu können, wurden die Befallszahlen der gebeizten Parzellen aller Herkünfte in Prozent des zugehörigen Kontrollbefalls umgerechnet, und die neuen Werte einer Varianzanalyse unterworfen. Es ergab sich, daß die Herkünfte nunmehr statistisch nicht mehr einwandfrei nach ihrer Pathogenität unterschieden werden konnten. Die in Tabelle 12 zusammengefaßten Mittelwerte aus dieser Umrechnung gelten daher für alle geprüften Herkünfte unter den Bedingungen des dargestellten Versuches. Daraus ist zusammenfassend der Schluß zu ziehen, daß in vorliegendem Versuch die Pathogenität nach Beizung dem Befall in den Kontrollparzellen direkt proportional war. Abweichungen von dieser Regel sind als zufallsbedingt anzusehen. Ansatzpunkte für eine gewisse Beizmittelresistenz unabhängig vom Befall der Kontrollen, wie sie sich in den beschriebenen Laboratoriumsversuchen ergeben hatten, konnten hier also nicht gefunden werden.

Tabelle 12

Der durch 17 Herkünfte hervorgerufene Steinbrandbefall bei Beizung mit zwei Mitteln in drei Dosierungen, ausgedrückt in Prozent des Befalls der Kontrollparzellen

Dosierung in g/dz	50	100	200
Ceresan	46,3	18,6	6,0
Tritisan	31,1	8,9	0,7

Die praktische Bedeutung der hier gefundenen Herkunftsunterschiede veranschaulicht Übersicht 4. Man erkennt den weitreichenden Einfluß, den die physiologische Eigenart einer zufällig vorhandenen Brandsporenherkunft nicht nur auf den Befallsgrad, sondern auch auf den Beizerfolg ausüben kann.

Übersicht 4

Die Höhe des Brandbefalls in Abhängigkeit von Sporenherkunft und Saatgutbehandlung

Behandlung des Saatgutes	Befall:						
	>15%	15—10%	10—7%	7—5%	5—3%	3—1%	<1%
Kontrollen	19b, 21, 2 24, 4, 1, 12, 25, 11, 9, 20	14, 13, 26, 8	10, 22, 7, 23	15			
Ceresan 50 g/dz	25	4, 12, 24	13, 11, 1, 19b, 9	10, 2, 21, 20	22, 8, 7, 14, 23	15	
Tritisan 50 g/dz		2	24, 12, 19b, 4	21, 11, 25, 14	13, 9, 1, 8	20, 7, 22, 10, 15, 23	
Ceresan 100 g/dz			4, 20	24, 12, 19b	21, 25, 1	11 Herk.	
Tritisan 100 g/dz					19b	12 Herk.	7, 13, 22 15, 10, 23
Ceresan 200 g/dz						9, 12, 2, 4, 19b, 1, 15	12 Herk.
Tritisan 200 g/dz							19 Herk.

Z. B. kann bei unterdosierter Ceresanbeizung mit 100 g/dz je nach der vorhandenen Herkunft ein Befall resultieren, wie er bei einer anderen Herkunft ohne Beizung oder auch bei normaler Beizung sich ergeben hatte. Weitere ähnliche Beziehungen lassen sich leicht ablesen. Dabei ist der Hinweis wichtig, daß diese Abstufung sich bei einem Kontrollbefall ergeben hat, wie er auch unter den Verhältnissen des praktischen Anbaus bei fehlender Beizung leicht erreicht wird. Außerdem ist die hier geprüfte Herkunftszahl noch relativ gering, so daß man bei Vergrößerung des Sortiments unter Umständen noch weitere Extreme finden würde. Andererseits lassen sich derartige Herkunftsunterschiede aber ausgleichen, wenn bei normaler Dosierung das verwendete Beizmittel genügende fungizide Reserven aufweist (vgl. Tritisan 200 g/dz), so daß eine Verbesserung unserer Beizmittel weiterhin wichtig bleibt.

Besprechung der Ergebnisse

Die Bedeutung der Bodenverseuchung ist in der neueren Literatur häufiger diskutiert und zum Teil als beachtlich angesehen worden. Dazu muß man voraussetzen, daß im Boden lagernde Steinbrandsporen längere Zeit infektionsfähig bleiben. In voller Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren konnte jedoch gezeigt werden, daß der Befall in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer der Sporen im Boden abnimmt und nach vier Wochen ganz unterbleibt. Der Verseuchung der Böden mit Normalsteinbrandsporen

kann somit nach wie vor nur geringe Bedeutung beigemessen werden, sofern nicht längere Trockenperioden zwischen Weizenernte und -saat die Sporenkeimung verzögern.

Auch in den Boden gelangte, unbeschädigte Brandbutten können nach den Ergebnissen eines Lagerungsversuches in feuchter Erde unter den hiesigen klimatischen Bedingungen nicht zu einer länger andauernden Verseuchung führen, wenn auch in diesem Falle die Spanne zwischen Ernte und Saat wohl zu überbrücken ist. Eine echte Gefährdung liegt also auch hier nur bei der Fruchtfolge Weizen—Weizen vor. Insgesamt ist die Bedeutung der Bodenverseuchung für den Befall trotz Beizung wohl etwas überschätzt worden.

Liegt Bodenverseuchung zur Saatzeit jedoch wirklich vor, so ist der Steinbrandbefall durch Beizung mit quecksilberhaltigen Präparaten nicht zu verhindern, ja nicht einmal wesentlich einzuschränken. Vielmehr ergab sich bei Unterdosierung sogar eine deutliche Befallserhöhung gegenüber den ungebeizten Kontrollen. Mit Beizmitteln auf Chlornitrobenzol-Basis lassen sich jedoch auch bei Bodenverseuchung sehr gute Bekämpfungserfolge erzielen.

Im Rahmen der Untersuchungen zur Frage des Auftretens beizmittelresistenter Steinbrandherkünfte konnte in den Laboratoriumsversuchen gezeigt werden, daß die Herkünfte sich zum Teil durch eine verschiedene Anzahl trotz Beizung noch keimender Sporen unterscheiden. Diese Unterschiede waren jedoch nur bei einer Beizmitteldosierung zwischen 100 und 150 g/dz klar nachweisbar. Bei normaler Dosierung (200 g/dz) war keine oder nur ganz vereinzelte Sporenkeimung zu beobachten. Es steht somit fest, daß Sporen verschiedener Herkunft sich in ihrer Beizmittelresistenz unterscheiden können. Bei den von mir geprüften 20 Herkünften blieben diese statistisch gesicherten Unterschiede allerdings innerhalb relativ enger Grenzen.

Im Feldversuch ergaben sich eindeutige Unterschiede zwischen den durch die verschiedenen Herkünfte hervorgerufenen Befallszahlen, und zwar sowohl bei den nichtgebeizten als auch bei den gebeizten Parzellen. Es ließ sich zeigen, daß der durch eine bestimmte Herkunft trotz Beizung erzielte Befall dem Befall bei den nichtgebeizten Proben direkt proportional war. Das gilt innerhalb gewisser Grenzen für die beiden geprüften Beizmittel (Ceresan und Tritisan) in gleicher Weise. In seiner absoluten Wirksamkeit war das Tritisan dagegen eindeutig überlegen. Die eigentliche Pathogenität der Herkünfte war somit das für ihre Differenzierung entscheidende Merkmal. Sie stand zum Teil in enger Beziehung zu der im Vorjahr und im Versuchsjahr vorliegenden Wirtssorte. Die Herkunftsunterschiede waren dabei in einzelnen Fällen so wirksam, daß sie die durch eine Verdoppelung der Beizmitteldosierung erzielte Befallsminderung voll ausgleichen konnten. Die Abhängigkeit des Befalls trotz Beizung von der Pathogenität bei den ungebeizten Kontrollen hat zur Folge, daß bei Beizung der Befall in Prozent der Kontrollen für alle Herkünfte etwa gleich ist. Er wird in seiner Höhe durch die Dosierung des Beizmittels, dessen fungizide Wirksamkeit und die herrschenden Umweltbedingungen beeinflußt. Ob bei einem wesentlich erhöhten Befall der Kontrollen sich dieser Wert auch merklich verändert, läßt sich aus meinem Versuchsmaterial nicht entnehmen. Immerhin blieb er bei einem Befall der

Kontrollen zwischen 29 und 8 % im wesentlichen konstant und erreichte bei normal dosierter Ceresanbeizung im Mittel aller Herkünfte noch 6 %. Ob die Höhe des Bestäubungsgrades der Körner mit Brandsporen diese Relation wesentlich beeinflußt, läßt sich aus diesen Versuchen nicht ersehen.

Vergleicht man die Ergebnisse der Laboruntersuchungen mit denen des Feldversuches, so ergibt sich keine Übereinstimmung. Die Anordnung der Herkünfte nach der Zahl trotz Beizung gekeimter Sporen (Tab. 4) ergibt eine ganz andere Reihenfolge als die Anordnung nach ihrer Pathogenität im Feldversuch. Das bedeutet, daß die im Laboratorium festgestellte unterschiedliche Beizmittelresistenz der Herkünfte offensichtlich ohne Einfluß auf das Befallsergebnis im Feldversuch blieb. Zur Erklärung des im praktischen Anbau häufiger aufgetretenen Befalls trotz Beizung kann die nachgewiesene Beizmittelresistenz also nicht dienen. Eine Gefährdung des Beizerfolges bedeutet dagegen das Vorliegen allgemein hochpathogener Herkünfte. Da die Pathogenität deutlich von der Wirtssorte abhängig ist, dürfte die Verwendung weniger, innerhalb bestimmter Anbaugebiete vorherrschender Sorten auf die Dauer befallsfördernd wirken. Der Wechsel der angebauten Weizensorte kann daher bei stärkerer Verseuchung eines Betriebes (Speicherräume, Säcke, Maschinen) neben dem Saatgutwechsel eine wirkungsvolle pflanzenhygienische Maßnahme zur Steinbrandbekämpfung sein. Für die Bekämpfung gilt weiterhin, daß von der Aussaat stärker verseuchten Saatgutes abzusehen ist, da bei Vorliegen hochpathogener Herkünfte und Beizung mit den üblichen Quecksilbermitteln auf eine befriedigende Ausschaltung des Parasiten nicht zu rechnen ist. Die Saatenanerkennung ist folglich mit größter Sorgfalt zu handhaben. Daneben erscheint die Entwicklung bzw. Verwendung von Beizmitteln mit gesteigerter fungizider Wirksamkeit erwünscht, um bei den in der Praxis gewiß nicht seltenen Unterdosierungen über eine höhere fungizide Reserve zu verfügen.

Schließlich seien noch einige ergänzende Hinweise zur Frage der Vergleichbarkeit von Labor- und Feldversuch gegeben. Zwischen ihren Ergebnissen besteht auch insofern ein Widerspruch, als bei normaler Ceresanbeizung im Labor die Sporenkeimung praktisch völlig unterblieb, während sich im Feldversuch im Mittel noch ein Befall von 6 % des Befalls der Kontrollen ergab. Da in beiden Fällen der Verseuchungsgrad der Körner 8 ‰ betrug, müssen andere Faktoren den Parasiten im Feldversuch begünstigt haben. Vielleicht ist zur Erklärung der von Gassner und Niemann 1954 erbrachte Nachweis der optimalen Sporidienbildung bei niederen Temperaturen heranzuziehen. Die Beizmittelprüfung bei niederen Temperaturen verdient demnach wohl erhöhte Beachtung. Von besonderem Interesse wäre weiterhin die Klärung der Frage, welcher Infektionsmechanismus eine so deutliche Abhängigkeit des Befalls von der verwendeten Wirtssorte bewirkt. Eine genauere Kenntnis dieser Verhältnisse würde vermutlich zum besseren Verständnis auch der Gründe für den Steinbrandbefall trotz Beizung wesentlich beitragen können, da nach dem Ergebnis meiner Untersuchungen gerade die allgemeine Pathogenität der Herkünfte als einer der entscheidenden Faktoren anzusehen ist.

Zusammenfassung

1. Versuche zur Bodenverseuchung.

a) Normalsteinbrandsporen und -butten sind in feuchtem Boden, wie erneut bestätigt wurde, nur sehr begrenzt haltbar. Die Pathogenität loser Sporen erlosch nach etwa vier Wochen, in Butten verloren sie ihre Keimfähigkeit innerhalb acht bis zehn Wochen.

b) Die verwendeten quecksilberhaltigen Mittel blieben bei Bodenverseuchung praktisch wirkungslos, während Tritisan (chlor-nitro-benzolhaltig) den Befall verhindern konnte.

c) Der Befall bei Bodenverseuchung ist von Verseuchungsgrad und Bodenart abhängig, wobei anscheinend die Bodenstruktur eine Rolle spielt.

d) Unterdosierte Beizung mit quecksilberhaltigen Mitteln ergab bei Bodenverseuchung eindeutig erhöhten Befall gegenüber den ungebeizten Kontrollen.

2. Sporenkeimteste im Laboratorium ergaben zwischen den relativen Keimzahlen von 20 untersuchten Sporenherkünften nach Beizung mit 100 g Ceresan/dz konstante Unterschiede, die nur auf eine unterschiedliche Beizmittelwiderstandsfähigkeit zurückzuführen sind.

3. Herkunftsprüfungen im Feldversuch.

a) 22 verschiedene Herkünfte zeigten eine stark unterschiedliche Pathogenität bei den ungebeizten Kontrollen, die zum Teil durch die Wirtssorte im Vorjahr bestimmt war. Auch bei Beizung mit zwei Mitteln in drei Dosierungen war der Befall teilweise deutlich von der jeweiligen Sporenherkunft abhängig. Im allgemeinen war bei allen Herkünften der Befall bei Beizung dem der zugehörigen Kontrollen proportional.

b) Das chlor-nitro-benzolhaltige Beizmittel war dem quecksilberhaltigen deutlich überlegen. Bei letzterem ergab sich bei normaler Dosierung noch ein mittlerer Befall von 6 % des Kontrollbefalls. Der Einfluß von Bodenfaktoren (wahrscheinlich Vorfruchtwirkungen) auf den Befall war deutlich nachweisbar.

4. Die im Laboratorium festgestellte unterschiedliche Beizmittelresistenz der Herkünfte hatte auf das Befallsergebnis im Feldversuch keinen Einfluß.

5. Für das beobachtete Auftreten von Steinbrandbefall trotz Beizung kann u. a. die hohe Pathogenität einzelner Herkünfte verantwortlich sein, die durch langjährige Verwendung der gleichen Weizensorte hervorgerufen werden kann.

Die Anregung zu vorliegender Arbeit verdanke ich Herrn Professor Dr. HANS BRAUN, für dessen Förderung und Unterstützung ich ihm hier vielmals danken möchte. Für die Beratung in Fragen der Versuchsauswertung bin ich Herrn Privatdozent Dr. WILHELM KOSSWIG zu Dank verpflichtet.

Literaturverzeichnis

Appel, O. und Riehm, E., 1913: Zur Frage der Überwinterung von Steinbrandsporen im Boden. Mitt. Biol. Reichsanst. Heft **15**, 6.

Bever, W. M., 1939: Reinoculation of resistant varieties of wheat with parified physiologic races of *Tilletia tritici* and *Tilletia levis*. Phytopathology **29**, 863—871.

Bliss, C. I., 1937: Plant Protection No. 12 Leningrad (nach Snedecor 1945).

Bonne, C., 1931: Untersuchungen über den Steinbrand des Weizens. Angew. Bot. **13**, 169—209.

Borzini, G. und Cifferi, R., 1947: Indagini tossicometriche sugli anticrittogamici XXVI. Atti. Inst. Bot. Univ. Pavia, Serie 5, III, 4, 243—244 (zit. n. Rev. appl. Myc. **27**, 484).

Braun, H. und Riehm, E., 1953: Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung. 7. Aufl.

Bredemann, G., 1911: Die quantitative mikroskopische Bestimmung der Brandsporen (*Tilletia*-Sporen) in Kleie und Getreide. Landw. Versuchsstation **75**, 135.

Dillon-Weston, W. A. R., 1932: The relative resistance of some wheat varieties to *Tilletia caries*. Ann. appl. Biol. **19**, 35—54.

Feucht, W., 1932: Die Wirkung des Steinbrandes *Tilletia tritici* und *Tilletia foetens* auf verschiedene Winterweizensorten bei künstlicher Infektion und ihre Abhängigkeit von äußeren Faktoren. Phytopath. Z. **4**, 247—290.

Fittschen, H. H., 1940: Weitere Beiträge zur Züchtung steinbrandresistenter Weizensorten. Phytopath. Z. **12**, 169—218.

Gassner, G., 1925: Über die Abhängigkeit des Steinbrandauftretens von der Bodenbeschaffenheit. Ang. Bot. **7**, 80—87.

— —, 1938: Über Partialinfektionen von Weizenkörnern durch *Tilletia* und die Entstehung der Steinbrandbutten. Phytopath. Z. **11**, 489—516.

— —, 1944: Zur Methodik der laboratoriumsmäßigen Prüfung von Beizmitteln. Phytopath. Z. **14**, 303—309.

— —, 1952, Beizung und Entseuchung von Saat- und Pflanzgut. Handb. d. Pflanzenkrankh., 6. Bd. 2. Aufl., 334 ff. Verlag Paul Parey, Berlin.

— — und Niemann, E., 1954: Untersuchungen über die Temperatur- und Lichtabhängigkeit der Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten. Phytopath. Z. **21**, 367—394.

— — und Rabien, H., 1925: Untersuchungen über die Bedeutung von Beiztemperatur und Beizdauer für die Wirkung verschiedener Beizmittel. Arb. biol. Reichsanst. **14**, 367 bis 410.

Grasso, V., 1946: First contribution to the study of wheat bunt in Italy. Int. Bull. Plant Protect. XX. 66—68 (zit. n. Rev. appl. Myc. **26**, 50).

Hanna, W. F. und Popp, E., 1933: The overwintering of bunt spores in western Canada. Scient. Agric. XIII. 10, 636—637 (zit. n. Rev. appl. Myc. **12**, 751, und Winkelmann, 1935).

— —, 1934: Bunt infection of spring wheat by soilborne spores. Scient. Agric. XIV. 5, 257—258 (zit. n. Rev. appl. Myc. **13**, 430, und Winkelmann, 1935).

Keding, F., 1952: Befall des Saatweizens mit Steinbrand im Jahre 1951 und die sich daraus ergebenden Folgerungen. Pflanzenschutz **4**, 64—67.

Kirchner, H. A., 1953: Die Bedeutung der Nachbehandlung gebeizten Getreides für das Auftreten des Steinbrandes. Nachr.-Bl. f. d. dtsch. Pflanzenschutzdienst (Berlin) 7, 155—156.

Krause, A., 1932: Beobachtungen über das verschiedene Verhalten einzelner Weizensorten gegen Brandbefall. Wiener ldw. Zeitung **82**, 252—259 (zit. nach Rev. appl. Myc. **12**, 17, und Winkelmann, 1935).

Lansade, M., Ponchet, P. und Guntz, M., 1951: Nouveaux essais de traitement de la carie du blé, *Tilletia tritici* (Bjerk.) Wint. Ann. d. Epiphyties **2**, 417—449.

Lein, A., 1951: Bemerkungen zu neueren Arbeiten über Fragen des Feldversuches. Z. Pfl.-Züchtung **30**, 89—111.

Linder, A., 1951: Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Mediziner und Ingenieure. Birkhäuser, Basel.

Moore, W. C., 1944: Cereal diseases in England and Wales. Ann. appl. Biol. **31**, 360—362.

Mudra, A., 1952: Einführung in die Methodik der Feldversuche. Hirzel, Leipzig.

Müller, H. und Schuhmann, G., 1954: Untersuchungen über die Ursachen von Beizmittelfehlschlägen bei der Bekämpfung des Weizensteinbrandes (*Tilletia tritici* [Bjerk.] Winter). Phytopath. Z. **22**, 305—326.

Pätau, K., 1943: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen. (Eine neue t-Tafel.) Biol. Zbl. **63**, 152—168.

Pielen, L., 1952: Einfluß von Sortenwahl, Saatgutwechsel und Beizung auf den Getreideertrag. Arch. dtsch. Landw. Ges. **10**, 78.

Priefer, H., 1953: Verhütung von Weizensteinbrand und Fußkrankheiten. Mitt. dtsch. Landw. Ges. **68**, 1046—1047.

Rabien, H., 1927: Über die Keimungs- und Infektionsbedingungen von *Tilletia tritici*. Arb. Biol. Reichsanst. **15**, 297—353.

Rademacher, B., 1951: Die Umschau in Wissenschaft und Technik **51**, 602.

Rapin, I., 1946: Essai de lutte contre la carie du froment (*Tilletia tritici*). Rev. rom. Agric. **8**, 65—66 (zit. n. Rev. appl. Myc. **26**, 311).

Roemer, Th. und Bartholly, R., 1933: Die Aggressivität verschiedener Steinbrandherkünfte und ihre Veränderung durch die Wirtssorte. Phytopath. Z. **6**, 469—504.

Savulescu, T. und Hulea, A., 1944: Nuovi contributi allo studio della carie del frumento. Bull. sect. sci. Acad. roum. **26**, 409—422 (zit. n. Rev. appl. Myc. **27**, 415).

Snedecor, G. W., 1946: Statistical methods to experiments in agriculture and biology. Iowa State Coll. Press Ames (Iowa) 4. Aufl.

Voss, I., 1938: Zur Methodik der Prüfung von Weizensorten auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen Steinbrand. Pflanzenbau **14**, 113—153.

Wenzl, H., 1949: Zur Anwendung der Varianzanalyse in der Biologie. Statist. Vierteljahresschrift **2**, 106—112.

— —, 1952, Die Anwendung statistischer Prüfverfahren in Pflanzenschutzversuchen. Z. Pfl.-Krankh. u. Pfl.-Schutz **59**, 26—39.

Winkelmann, A., 1935: Warum tritt Weizensteinbrand trotz Beizung stärker auf? Pflanzenbau **12**, 149—156.

— — und Paul, H. L., 1954: Ein Beitrag zur Frage der Quecksilberresistenz von *Tilletia tritici*. Höfchen-Briefe **7**, 57—66.

Zobrist, L. und Thiollière, I., 1954: Neue Mittel zur Bekämpfung der Korn- und Boden-„Infektion" des Weizensteinbrandes. Phytopath. Z. **21**, 311—322.

Zogg, A., Horber, E. und Salzmann, R.: Bericht über die Tätigkeit der Eidgenössischen Landwirtschaftlichen Versuchsstation Zürich-Oerlikon für 1946/47. Ann. agric. Suisse **14**, 460—469 (zit. n. Rev. appl. Myc. **28**, 113).

Aus dem Institut für allgemeine Botanik der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Direktor: Prof. Dr. Hans Wartenberg

Untersuchungen über den Saprophytismus des *Colletotrichum atramentarium* (B. et Br.) Taub. und die Lebensdauer der Sklerotien (Acervuli) des Pilzes

Von

H. Gemeinhardt

Mit 7 Abbildungen

Inhalt: Einleitung — I. Über den Saprophytismus des Pilzes. 1. Studien über das Myzelwachstum im Boden; 2. Konidienbildung auf Agarmedien nach Erdpassage und auf sterilisierten Böden; 3. Sklerotienbildung auf sterilisierten Böden; 4. Antibioseversuche im sterilen Boden — II. Über die Lebensdauer der Sklerotien (Acervuli) des Pilzes im Boden und im Kompost. 1. Versuche zur Isolierung aus Kartoffelkrautkompost; 2. Versuche zur Isolierung aus Sklerotienmaterial, das in Töpfen vergraben war; 3. Die Sklerotien von freiliegend überwintertem Kartoffelkraut — Besprechung der Ergebnisse — Zusammenfassung — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Durch Arbeiten unseres Institutes wurde während der letzten Jahre die Aufmerksamkeit auf einen pflanzenparasitären Pilz gelenkt, der lange Zeit in seiner Bedeutung verkannt worden ist. Der Grund hierfür ist vor allem darin zu suchen, daß *Colletotrichum atramentarium* in der Form seiner Sklerotien (Acervuli) an abgestorbenem Kartoffelkraut in großen Massen zu finden ist, was der Hinweis auf saprophytische Lebensweise zu sein schien.

Die *Colletotrichum*-Literatur haben Dickson (1925 und 1926), Défago und Gasser (1942) und neuerdings auch Schmiedeknecht (1956) besprochen. Man findet dort auch noch in jüngeren Arbeiten die Vorstellung, daß *Colletotrichum atramentarium* ein Bodensaprophyt sei (Hochapfel 1940, Husz 1953, Pape 1932). Demgegenüber stehen die Ansichten von Ducomet (1908), Averna-Saccá (1923), Cavadas (1923), Dickson (1925) und Olgyay (1951), die durch Infektionsversuche einen echten Parasitismus nachgewiesen haben. Eine Zwischenstellung nehmen die Autoren ein, die von Schwäche- und Wundparasitismus sprechen (Wenzl, 1950, Bremer 1954).

Die Streitfrage „Parasit oder Saprophyt" ist in neuester Zeit durch die Arbeiten von Schmiedeknecht (1956) bezüglich des Parasitismus eindeutig beantwortet worden. Er untersuchte die parasitischen Eignungen des Pilzes

und hat die *Colletotrichum*-Welke durch histologische Studien und mikrobiologischen Nachweis des Erregers im lebenden Gewebe als Folge eines parasitischen Verhältnisses klarstellen können.

Es ist andererseits eine bekannte Tatsache, daß der Pilz auf vielen toten Naturprodukten und auch auf synthetischen Nährböden zu kultivieren ist, wenn diese steril sind, was hinsichtlich der Ernährung seine Befähigung zur saprophytischen Lebensweise beweist. Aber neben der Tatsache, daß ein parasitischer Pilz auf künstlichen Substraten saprophytisch leben kann, interessiert in der Phytopathologie die Frage, ob und wieweit Parasiten auch den Boden als Lebensmilieu in Anspruch nehmen können, um von dort aus jährlich erneut Pflanzen zu infizieren. Die Chancen der parasitischen Mikroorganismen, sich im Boden wenigstens soweit entwickeln zu können, daß man von einer saprophytischen Phase sprechen kann, werden von den jeweiligen klimatischen, edaphischen und biotischen Faktoren bestimmt.

Seit man mit der Entdeckung des Penicillins das Phänomen der Antibiose intensiv bearbeitet hat, wurde auch Antagonisten phytopathogener Pilze, die unter den Bodenorganismen zu vermuten waren, zunehmend Aufmerksamkeit geschenkt (WAKSMAN 1937, 1941, 1942, 1950, ALEXOPOULOS, ARNETT und MCINTOSH 1938, ALEXOPOULOS und HERRICK 1942, KÖHLER 1950, GRÜMMER 1951, REHM 1952, KRASSILNIKOW 1953, DÖLLE 1954, ETTIG 1955). Hier interessiert die Frage: Was geschieht im Boden? Es gilt zu erörtern, ob und wieweit nach dem jetzigen Stande unseres Wissens das antibiotische Prinzip auch bei den Verhältnissen im Boden wirksam ist (GARRETT 1944, BRIAN 1948, GROSSBARD 1948, WINTER 1949 und 1950, WALLHÄUSER 1950, JEFFERYS 1952, JEFFERYS, BRIAN, HEMMING und LOWE 1953, GEMEINHARDT 1955).

Faßt man diesbezüglich die gegenwärtigen Anschauungen und Kenntnisse zusammen, so kann man folgendes aussagen: Die Annahme, daß das antibiotische Prinzip im Boden eine ökologische Bedeutung hat, beruht auf folgenden Tatsachen:

a) Bodenorganismen bilden auf künstlichen Substraten in Reinkulturen Stoffe, die für andere Mikroorganismen Hemmstoffe sind.
b) Die auf künstlichen Substraten gewonnenen Ergebnisse dieser antibiotischen Wirkungen sind in steriler Erde reproduzierbar.
c) Phytopathogene Pilze, die mit Pflanzenteilen in den Boden verschleppt werden, sind nach einiger Zeit nicht mehr zu reisolieren, obgleich sie im sterilen Boden saprophytische Eignungen beweisen.
d) Phytopathogene Organismen haben in der Regel eine viel größere Empfindlichkeit gegenüber Hemmstoffen als die saprophytischen Mikroorganismen des Bodens.

Es sind dies nur indirekte Beweise. Die Kompliziertheit des Bodens bringt es mit sich, daß bisher überraschend wenig direkte Beweise des antibiotischen Effektes im Boden gefunden werden konnten. Besonders BRIAN (1948) weist auf die großen Schwierigkeiten hin, die bestehen, wenn im natürlichen Boden die Menge eines Antibiotikums soweit angereichert werden

soll, daß eine Antibiotikawirkung gemessen werden kann. Man kommt leicht zu der Vorstellung, daß in den „Kleinstleberäumen" des Bodens antibiotische Wirkungen sehr lokaler Art ausgeübt werden (Rippel-Baldes 1955). Viele Tatsachen können mit dem antibiotischen Prinzip erklärt werden und Brian (1948) folgert deshalb, daß auch die Instabilität der Antibiotika kein Grund zu sein braucht, ihnen eine biologische Bedeutung im Boden abzusprechen.

Die Arbeit, über die hier berichtet wird, suchte die Frage zu beantworten, ob *Colletotrichum atramentarium* ein echter Bodensaprophyt ist. Im engen Anschluß hierzu ist eine Bearbeitung der Frage nach der Lebensdauer der Sklerotien (Acervuli) in den Untersuchungskreis aufgenommen worden, über deren Ergebnisse hier berichtet werden kann.

I. Über den Saprophytismus des Pilzes

1. Studien über das Myzelwachstum im Boden

In einer früheren Mitteilung (Gemeinhardt 1954) konnte ich nachweisen, daß der Pilz *Colletotrichum atramentarium* unter den Aktinomyceten des Bodens beachtliche Antibionten hat. Es waren die Hemmwirkungen von 94 Aktinomycetenstämmen geprüft worden. Dabei zeigten sich von 45 frisch aus dem Boden isolierten Streptomyceten 13 hoch (28,9 %) und 22 mäßig aktiv (48,9 %). Desgleichen konnte Ettig (1955) nachweisen, daß auch unter den Bakterien des Bodens hochaktive Antibionten des *Colletotrichum atramentarium* zu finden sind.

Die Arbeit von Ettig und meine Untersuchungen waren nur ein Bestandteil der grundsätzlichen Frage, ob der Pilz neben seiner parasitischen Lebensweise auch saprophytisch im Boden zu leben vermag oder nicht. Ein zweiter Beitrag befaßte sich deshalb mit dem speziellen Verhältnis von *Colletotrichum atramentarium* zum Boden (Gemeinhardt 1955). Während Schmiedeknecht den Erreger von der Seite der parasitären Eignung her bearbeitete, ging ich in meinen Untersuchungen über die Natur des Pilzes von der Seite des Saprophytismus aus und postulierte ihn sogar zeitweise als Arbeitshypothese. Ich begann die Bearbeitung des Themas mit Versuchen, den Pilz aus dem Boden zu isolieren. Es ergab sich in allen Versuchsreihen, daß *Colletotrichum atramentarium* aus natürlich belebten Bodenproben, die von stark befallenen Kartoffeläckern stammten, niemals isoliert werden konnte. Desgleichen war es nicht möglich, den Pilz aus belebtem Boden zu reisolieren, wenn die natürlich belebte Bodenprobe mit einer Konidiensuspension beimpft worden war. Das experimentelle Ergebnis steht in einem gewissen Gegensatz zu zahlreichen, in der Literatur beiläufig ausgesprochenen Ansichten, wonach *Colletotrichum atramentarium* ein weitverbreiteter Saprophyt sei (Hochapfel 1940, Pape 1932). Es steht dagegen in Übereinstimmung mit den Angaben von Niethammer (1937) über die Isolier- und Nichtisolierbarkeit phytopathogener Pilze.

Berichte über Kultivierungsversuche auf hitzesterilisierter Feld- und Komposterde sollen hier weitere Beiträge zur Beantwortung der Frage nach dem Saprophytismus des

Colletotrichum atramentarium bringen. Der Wert solcher Versuche wird bei den einzelnen Autoren abweichend eingeschätzt. Nach NIETHAMMER (1937) soll die Kultur der Pilze auf der sterilisierten eigenen Erde einen Vergleich mit den Wachstumsmöglichkeiten im Erdreich abgeben. Auch WINTER (1950) würdigt die Untersuchung der „Ökologie unter sterilen Bedingungen". Er warnt jedoch „vor einer Überschätzung des saprophytischen Wachstums durch Berücksichtigung der in künstlicher Kultur oder sterilen Böden zu erreichenden Entwicklung". — LIHNELL (1935) widmet der Frage der Sterilisation von Humus für Pilzkulturen eine Arbeit. Viele der häufigsten Bodenpilze, z. B. *Mucor-* und *Trichoderma*-Arten, wuchsen ohne Schwierigkeit auf hitzesterilisiertem Humus, andere hingegen kamen überhaupt nicht zur Entwicklung. Der Verfasser nimmt an, daß bei Erhitzung ein partieller Abbau der vorkommenden organischen Stoffe stattfindet und gewisse Abbauprodukte toxisch wirken. Er stützt sich auf die Tatsache, daß Humus, der im Autoklaven erhitzt und mit sterilem Wasser ausgewaschen wurde, dann auch für empfindlichere Pilzarten als Substrat verwendet werden kann. MELIN (zit. nach LIHNELL 1935) geht sogar so weit, bei empfindlichen Organismen die gebildeten Giftstoffe durch eine Vorkultur mit anderen Mikroorganismen unschädlich zu machen. — Weiterhin ist denkbar, daß Wuchsstoffmangel die Entwicklung von Pilzen in steriler Erde hemmen kann. GÄUMANN (1950) konnte jedoch zeigen, daß die Zahl der vollkommen wuchsstoffheterotrophen parasitischen Pilze gering ist. Jedenfalls bedeutet das Abtöten aller Konkurrenten und Antibionten der Mikroflora und die Zerstörung ihrer Stoffwechselprodukte bei der Hitzesterilisation eine Beseitigung biotischer Hemmungsursachen, wobei auch noch mit einer Nährstoffaufschließung zu rechnen ist (WINTER 1950). Es ist deshalb anzunehmen, daß — von thermolabilen Wuchsstoffen und anderen biogenen Substanzen abgesehen — die durch Sterilisation aufgeschlossene und von allen Konkurrenten befreite Erde für die meisten mikroskopischen Bodenpilze ein weitaus besseres Kulturmedium darstellt als natürliche Erde.

In den nachfolgend beschriebenen Versuchen ist es gelungen, in sterilem Boden einen Pilz zum Wachstum zu bringen, der in demselben Boden nicht leben kann, wenn dieser noch natürlich belebt ist.

Zwei Einsporisolierungen von *Colletotrichum atramentarium* wurden auf hitzesterilisierter Feld- und Komposterde kultiviert. In verschiedenen Versuchsfraktionen waren dem sterilen Boden einmal Aqua dest. und andermal Bodenextrakt oder organische Nährstoffe (Biomalz, Pepton) bzw. Harn zugegeben worden. Den Substratwechsel vom Biomalzagar zur sterilisierten Erde beantwortete der Pilzstamm 2 G mit einer abnormen Luftmyzelbildung. Sein Wachstum konnte deshalb nach dem Umfang der Ausbildung dieses Myzels beurteilt werden. Es zeigte sich dabei, daß das Wachstum auf steriler Erde ohne Zusatz schwach war und die Zufügung von Bodenextrakt das Wachstum des Pilzes nicht erkennbar förderte. Dagegen waren starke graduelle Unterschiede bei Zugabe von organischen Nährstoffen zu beobachten. Durch die Versuchsfraktion mit Harn sollte die Wuchsstofffrage Beachtung finden. Die erzielte Förderung entsprach jedoch nur einer schwachen Nährstoffwirkung auf der organisch nährstoffarmen Felderde. Auf der nährstoffreichen Komposterde trat die Förderung nicht in Erscheinung. Wie auch aus zahlreichen anderen Kulturen des Pilzes hervorging, muß *Colletotrichum atramentarium* weitgehend wuchsstoffautotroph sein (vgl. auch DÉFAGO und GASSER 1942).

Luftmyzel zeigt der Pilz auch auf optimalem Agar-Substrat in überalterten Kulturen, besonders an den Übergangsstellen von Agar und Glaswand. Außerdem tritt Luftmyzel auf Agarplatten häufig in Form von Sektoren auf. Der *Colletotrichum*-Stamm 2 G wuchs nach Rückimpfung von

steriler Erde auf Malzagar zunächst vorwiegend in Form von Luftmyzel aus. Erst nach etwa zehn Tagen hatte der Pilz sich wieder soweit umgestellt, daß er, in den peripheren Teilen der Kultur beginnend, nach dem Zentrum hin abweichend kleine Sklerotien bildete.

2. Konidienbildung auf Agarmedien nach Erdpassage und auf sterilisierten Böden

Der Stamm 2 G wurde vier Monate auf steriler Erde sich selbst überlassen und danach auf Malzagar überimpft. Obgleich das Luftmyzel mindestens drei von vier Monaten auf ausgetrocknetem Boden gelebt hatte, war der Pilz in seiner Wachstumsfähigkeit nicht beeinträchtigt worden. Wie die mikroskopische Untersuchung des „Erdeluftmyzels" nach fünf Tagen Bebrütung auf Malzagar als Substrat aber ergab, waren nur vereinzelt Konidien nachzuweisen. Von einer Sklerotienbildung war nichts zu sehen. Nach zehn Tagen hatte sich das Luftmyzel zu einer Decke verdichtet. Nun waren Konidien reichlich vorhanden und die Bildung der Sklerotien hatte begonnen. Beide Veränderungen waren vornehmlich in den peripheren Teilen und in der agarnahen Zone der etwa 3 mm dicken Myzeldecke eingetreten.

Um die Befunde zu reproduzieren und eine bessere Übersicht der Konidienbildung zu gewinnen, wiederholte ich den Versuch noch einmal in Böttcherkammern. Es wurde dabei die Konidienbildung von „Erdeluftmyzel" unter sonst gleichen Bedingungen mit einem bis dahin auf Malzagar kultivierten Laborstamm und einer frisch vom Kartoffelstengel isolierten *Colletotrichum*-Kultur verglichen. Als Nährmedium für die Böttcherkammern-Kulturen diente wie im vorangegangenen Versuch der übliche Malzagar. Nach zehn Tagen war von zehn Böttcherkammern-Kulturen, die mit „Erdeluftmyzel" beimpft worden waren, nur eine zur Konidienbildung gekommen. Sklerotien wurden überhaupt nicht gebildet. Es traten jedoch verstärkt als Appressorien beschriebene Gebilde auf, die im Vergleich zu den von SCHMIEDEKNECHT (1956) beobachteten Appressorien Deformationen aufwiesen. Im Gegensatz zu diesen Kulturen, die durch Impfung mit „Erdeluftmyzel" angesetzt waren, zeigten sich bei den entsprechenden Böttcherkammern-Kulturen, die mit älteren Malzagar-Kulturen und frisch vom Kartoffelstengel isolierten beimpft worden waren, bei gutem Wachstum schon nach einem Tage viele Konidien und nach zwei und mehr Tagen reiche Konidienbildung.

Beide Erscheinungen — der Verlust der Konidienbildung und das Auftreten deformierter Hyphen — wurden von R. MÜLLER (1953) an Luftmyzel von *Penicillium notatum* beobachtet und als eine ernährungsphysiologische Modifikation gedeutet.

Beobachtungen an *Colletotrichum*-Luftmyzel bestätigten diese Feststellung. Der häufig „sterile" Luftmyzelsektor spaltete in den Folgekulturen gewöhnlich immer wieder auf und war überdies auch in sich nicht beständig, denn er bildete nach und nach kleine Sklerotien, womit meist auch eine Fruktifikation verbunden war. Es hing auf Agarplatten sehr von dem Untersuchungstermin ab, wieweit der Luftmyzelsektor noch „steril" war oder nicht. Das Ergebnis der Böttcherkammern-Kulturen weicht damit von den Erfah-

rungen ab, die mit Überimpfungen von Luftmyzel der Erdkulturen auf Agarplatten gemacht werden konnten. Der Grund wird darin zu sehen sein, daß die in Böttcherkammern-Kulturen verwandte sehr kleine Nährstoffmenge für den Pilz zu gering war, so daß dieser sich nicht physiologisch regenerieren konnte, wogegen er auf Agarplatten eine größere Substratmenge hatte.

Wegen der Bedeutung, die die Frage der Fruktifikation auf steriler Erde für die Beurteilung des Pilzes hat, wurden die bisher verwendeten Stämme in Form von Konidien- bzw. Myzelfragment-Suspensionen auf sterile Feld- und Komposterde aufgeimpft und bei 28 ° C und hoher Luftfeuchtigkeit bebrütet.

Da es vorkam, daß hitzeresistente Bazillensporen offenbar unter der Schutzwirkung von Bodenteilchen trockene Hitze überlebten, führte ich alle weiteren Versuche auf Böden durch, die in Ein-Liter-Gefäßen im Autoklaven 1 h bei 2 atü sterilisiert worden waren. Nach dieser Prozedur, durch die in allen Fällen absolute Sterilität erzielt werden konnte, wurden entsprechende Gewichtsmengen der Erde auf die einzelnen Versuchsgefäße verteilt und durch Einpipettieren von Aqua dest. oder organischen Nährflüssigkeiten die Feuchtigkeit des Substrates auf 60 bis 80 % der maximalen Wasserkapazität des Bodens eingestellt. Die dabei erfolgte schwache Keimbesiedlung wurde durch anschließendes kurzes Erhitzen im Autoklaven wieder rückgängig gemacht. Die pH der Böden stieg durch das Sterilisieren etwa um eine halbe Zehnerpotenz.

Komposterde vor der Sterilisation	pH 7,5
Komposterde nach der Sterilisation	pH 7,05
Felderde vor der Sterilisation	pH 7,7
Felderde nach der Sterilisation	pH 7,26

Im gleichen Versuch wurde bei einer weiteren Versuchsfraktion eine 2%ige Biomalzlösung zugesetzt. Nach zehntägigem Bebrüten suspendierte ich Pilz-Erde-Partikel auf dem Objektträger in Wasser. Grobe Teilchen wurden mit der Impföse beiseite geschoben, und nach Auflegen eines Deckglases die Aufschwemmung mikroskopisch auf Konidien untersucht.

Wie bei den bisherigen Untersuchungen, so waren auch diesmal auf steriler Feld- und Komposterde in der Regel keine Konidien zu beobachten. Der Pilz fruktifiziert demnach auf sterilen Böden — auch auf der nährstoffreicheren sterilen Komposterde — ohne Zusatz organischer Nährstoffe nicht oder zumindest so schwach, daß bei Anwesenheit der Erdpartikel ein mikroskopisches Erkennen schwierig ist. War dem Boden Biomalz zugesetzt worden, dann bildete der Pilz auch auf der sterilen Erde Konidien aus.

In einem weiteren Versuche sollte das Wachstum einer größeren Zahl von *Colletotrichum*stämmen auf steriler Komposterde geprüft werden. Besondere Beachtung schenkte ich dabei der Neigung zur Luftmyzelbildung im Gegensatz zur Substratmyzelbildung. Zunächst wurden 30 *Colletotrichum*-stämme (Einsporisolationen)[1]) in 100-ml-Kölbchen auf Malzagar geimpft und nach acht Tagen auf das Verhältnis $\frac{\text{Luftmyzel}}{\text{Substratmyzel}}$ untersucht. Darauf wurden von den einzelnen Kulturen Konidiensuspensionen hergestellt und von jedem je 1 ml in ein Kölbchen auf sterile Erde eingeimpft. Der Versuch bestätigte mit zwei Ausnahmen die Vermutung, daß *Colletotrichum*stämme, die schon

[1]) Herrn SENF danke ich für die Überlassung der Stämme.

auf Malzagar eine Neigung zur Luftmyzelbildung zeigen, diese ebenfalls auf steriler Erde erkennen lassen. Von den 30 untersuchten Stämmen überwog bei fünf (14, 21, 26, 28, 30) die Luftmyzelbildung auf Agar so sehr, daß der ganze Bereich der Kolonie von einem weißen Flaum durchsetzt war oder starke Luftmyzelsektoren auftraten. Dieselben Stämme wiesen auch auf steriler Komposterde starke Luftmyzelbildung auf. Eine Ausnahme machte der Stamm 20, der auf Malzagar nur tiefschwarze Sklerotien, d. h. vorwiegend Substratmyzel, auf Erde dagegen vorwiegend Luftmyzel bildete. Wenn die Luftmyzelbildungen auch in vielen Fällen eindeutige Ernährungsmodifikationen sind, so haben doch einige Stämme besondere Neigung zur Bildung des Luftmyzels und andere, wie der Stamm 20, eine Neigung zum Schwanken zwischen Extremen. Hieraus wird es schwer, das Luftmyzel nur als ein Zeichen des Substrathungers zu erkennen.

3. Sklerotienbildung auf sterilisierten Böden

Bei meinen ersten Kultivierungsversuchen mit Erde als Substrat setzte ich in die Mitte der Petrischale ein Impfstück, das ich aus Agarkulturen mit einem Korkbohrer (10 mm ⌀) ausgestanzt hatte. *Colletotrichum atramentarium* wuchs radial in Form von Substratmyzel aus, und nach über zehn Tagen entdeckte ich mit der Lupe auf der schwach ausgetrockneten Erdkruste kleine Sklerotien, die in ziemlich regelmäßigen Abständen gebildet worden waren.

Diese Versuche waren jedoch wenig beweiskräftig, da alle Anzeichen darauf hindeuteten, daß die in dem Impfstückchen gespeicherte Nährstoffmenge wesentlich zum Wachstum des Pilzes beigetragen hatte. Ich ging deshalb dazu über, zur Beimpfung der sterilen Böden Suspensionen von Konidien in physiologischer Kochsalzlösung zu verwenden. Die dabei übertragene sehr geringe Nährstoffmenge konnte gegenüber der nährstoffmäßig völlig undefinierten Erde vernachlässigt werden. Wie schon berichtet wurde, bestanden die gewachsenen Kulturen aus Luftmyzel. Erst danach prüfte ich diesbezüglich eine größere Zahl von *Colletotrichum*stämmen und entdeckte dabei, daß ein Teil in der Form von Substratmyzel wuchs. Diese Feststellung ließ in verstärktem Maße die Vermutung aufkommen, daß dieses Myzel auch Sklerotien bilden müsse. Es ist deshalb ein weiterer Versuch unternommen worden.

Eine Reihe von Agarkulturen des Pilzes in Petrischalen wurde abgestuft $^1/_2$, 1 und $1^1/_2$ cm hoch mit steriler und lufttrockener Erde bedeckt und im Verhältnis zur zugesetzten Menge Erde angefeuchtet. Einige Agarplatten erhielten keine gleichmäßige Bedeckung mit Erde; vielmehr ließ ich auf der einen Hälfte die Erdschicht allmählich auf das Niveau der Agarkultur auslaufen. Auf die Oberfläche der so zubereiteten Platten legte ich Fangscheibchen (10 mm ⌀) aus Malzagar aus. Nach 20tägiger Bebrütung bei 28 ° C zeigte sich folgendes: Der Pilz hatte in wenigen Tagen die Erdschichten von unten nach oben durchwachsen und auf den Agarscheibchen Sklerotien gebildet. Desgleichen waren die die Agarscheibchen unmittelbar umgebenden Erdkrümelchen dicht von großen Sklerotien besetzt. Auch in dem Bereich, wo die Erdschicht auf das Niveau der Agarkultur auslief, bedeckten große Skle-

rotien die Erdteilchen. Mit größerer Entfernung vom Agar jedoch nahm die Größe und Häufigkeit ab, bis schließlich in einiger Entfernung diese Gebilde so klein blieben, daß die Entscheidung, ob es sich noch um ein Sklerotium oder um einen schwarzen Bestandteil des Bodens handelte, nicht mehr getroffen werden konnte. In diesem Punkte sollte ein abschließender Versuch Klarheit bringen.

Als Substrat verwandte ich Felderde, die in der angegebenen Weise sterilisiert worden war. Komposterde war zu unübersichtlich; außerdem gab sie in ihrer schwarzen Eigenfarbe einen ungünstigen Untergrund gegenüber den schwarzen Sklerotien des Pilzes ab. Als Kulturgefäße benutzte ich Petrischalen. Die Beimpfung des Erdsubstrates, dem — wie die Tabelle 1 zeigt — auch Biomalz bzw. Strohhäcksel zugegeben worden war, erfolgte in der einen Versuchsreihe mit Konidien und in der anderen mit Sklerotien eines *Colletotrichum*-Stammes, der auf Agarmedien nur Substratmyzel und Sklerotien bildete.

Die eigentliche Auswertung nahm ich erst nach 30 Tagen vor. Es hatte sich nämlich gezeigt, daß ein Austrocknen der Erdpartikel das Erkennen der Sklerotien von *Colletotrichum atramentarium* erleichterte.

Tabelle 1

Die Sklerotienbildung von *Colletotrichum atramentarium* auf sterilisierter Felderde sowie bei Zusatz von Biomalz und Strohhäcksel, nach Beimpfung mit einer Konidien- bzw. Sklerotiensuspension

Art des Substrates	Beimpft mit	
	1 ml einer Konidiensuspension (~ 100 000 Konidien)	1 ml einer Sklerotiensuspension
Felderde (sterilisiert)	Sklerotien sind nur spärlich zu beobachten — das Substratmyzel ist schwach ausgebildet.	Häufigkeit und Größe der Sklerotien nimmt vom Impfbereich zur Peripherie hin ab.
Felderde (sterilisiert) + 5 ml 2%ige Biomalzlösung	Die Erdteilchen sind mäßig stark mit Sklerotien besetzt und werden von reichlich Substratmyzel überzogen.	Die Substratoberfläche erscheint durch die große Zahl von Sklerotien schwärzlich. Sklerotien auch in den peripheren Teilen.
Felderde (sterilisiert) + Strohhäcksel	Der Pilz bildet Sklerotien bevorzugt auf den zugesetzten Strohteilchen, die wie Fangstückchen wirken.	Wie bei Impfung mit Konidien, jedoch etwas stärkerer Befall der Strohteilchen mit Sklerotien.

Das Ergebnis zeigt, daß *Colletotrichum atramentarium* auf einem sterilisierten Boden mit mittlerem Nährstoffgehalt die Voraussetzungen für ein saprophytisches Wachstum und für die Sklerotienbildung findet. Substanzen mit Kohlenhydratcharakter, vor allem auch Stroh und andere pektin- und zellulosehaltige Überreste von Pflanzen, die der Pilz aufschließen kann (SCHMIEDEKNECHT 1956), fördern das Wachstum und wirken bei Ausschaltung der übrigen Mikroflora als Fangstückchen.

Das Ergebnis entspricht den bisherigen Versuchen über die Ernährungsansprüche des Pilzes. Es möge hier der Hinweis genügen, daß *Colletotrichum atramentarium* selbst auf Aqua dest.-Agar nach längerer Zeit Sklerotien zu bilden vermag. Die Nährstoffarmut des Bodens kann für die Entwicklung des Pilzes im Boden ein begrenzender Faktor sein, schließt jedoch potentiell

die Möglichkeit, darin vorzukommen, nicht aus. Sein effektives Vorkommen wird aber, wie sich in weiteren Versuchen immer wieder herausstellte, durch biotische Faktoren verhindert.

4. Antibioseversuche im sterilen Boden

Wie bereits ausgeführt wurde, konnte im Labortest unter den Aktinomyceten und Bakterien des Bodens eine beachtliche Zahl von Antibionten des *Colletotrichum atramentarium* nachgewiesen werden (Gemeinhardt 1954, Ettig 1955). Nähere Untersuchungen verschiedener Hemmhöfe vermittelten inzwischen eine Vorstellung über den Mechanismus des antibiotischen Angriffes.

Ich untersuchte insbesondere den Hemmhof, der von dem hochaktiven Stamm G 35 gebildet wurde. *Colletotrichum atramentarium* reagiert auf die Hemmsubstanz dieses Stammes in einer gewissen Entfernung mit einem Förderungswall, dessen Entstehung in einer anderen Arbeit unseres Institutes geklärt wird. Mikroskopische Studien im Durchlicht wurden vor allem in der Nähe der Wallbildung durchgeführt. Es zeigte sich, daß die vom Sklerotienwall in den Bereich des Hemmhofes vorstoßenden Hyphen des Pilzes schon in kurzer Entfernung bemerkenswerte Veränderungen aufwiesen. Durch Mikroskopieren einer größeren Zahl von Hyphenenden war eine Rekonstruktion der antibiotischen Wirkung in ihren verschiedenen Graden möglich (Abb. 1).

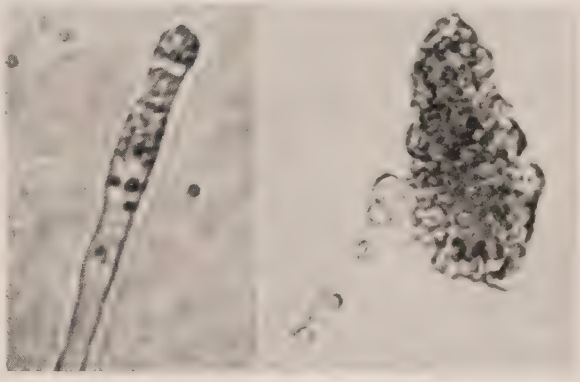


Abb. 1. Hyphenspitzen von *Colletotrichum atramentarium* unter dem Einfluß von antibiotischen Stoffen. Das Plasma zeigt links Granulierung. Rechts ist es zum Austritt des bereits granulierten Plasmas gekommen. Aufn.: Durchlicht, Vergr. 600

Die Veränderungen werden eingeleitet durch Vorgänge, die an Hyphenenden zu einer Granulierung des Plasmas führen, womit meist eine leicht keulige Auftreibung verbunden ist. Der Granulierungsprozeß schreitet darauf fort und bemächtigt sich größerer Hyphenteile. In der gleichen Zeit wird die Hyphenspitze weiter aufgetrieben. Es kommt schließlich zum Einreißen der Zellmembran und zum Austritt des bereits granulierten Plasmas (Lysisphänomen).

In älteren Kulturen war das Lysisstadium so häufig anzutreffen, daß in jeder Petrischale die große Zahl der ausgetretenen Plasmaklümpchen das mikroskopische Gesichtsfeld beherrschte. Hierdurch konnte in eigenen Versuchen nachgewiesen werden, daß entsprechend der Definition von Waksman (1947) ein Antibiotikum Mikroorganismen nicht nur zu hemmen vermag,

sondern „has the capacity even to destroy bacteria and other micro-organisms".

Mit diesen Versuchen auf Agarmedien waren wohl gute Vorstellungen über Hemmwirkungen gewonnen worden. Es stand aber noch immer die Frage zur Diskussion, in welcher Weise das Antibiosephänomen im Boden modifiziert wird und ob überhaupt Wirkungen zu erwarten sind. Wie einleitend berichtet wurde, sind die Meinungen der Autoren in diesem Punkte noch sehr unterschiedlich. Im Rahmen meiner Arbeit konnte es lediglich darum gehen, die Untersuchungen dadurch weiterzuführen, daß ich an Stelle steriler Agarmedien sterile Böden als Substrat verwendete und hierdurch das Milieu der Antibioseversuche in abiotischer Hinsicht dem natürlichen weitgehend anpaßte.

Als Substrat verwandte ich Komposterde, die wie üblich sterilisiert und befeuchtet worden war. Für die Beimpfung wählte ich zwei Stämme (14, 30), die mir von Agarmedien her als gute Luftmyzelbildner bekannt waren. Das weiße Luftmyzel ist auf Böden makroskopisch gut zu sehen, und konnte mir ohne umständliche Reisolationen über die Einwirkung des Aktinomyceten unmittelbar Aufschluß geben. Wenn die Hemmung des Luftmyzelwachstums die Wirkung eines Antibionten anzeigen soll, dann mußte erst erwiesen sein, daß sich der Hemmfaktor nicht nur auf die Substratmyzelbildung, sondern in gleicher Weise auch auf die Luftmyzelbildung auswirkte. Um dieses nachzuweisen, wurde in einem Antibiosetest (Strichtest auf Agarnährböden) ein zur Substratmyzelbildung neigender Stamm unseres Pilzes mit einem zur Luftmyzelbildung neigenden Stamm verglichen.

Es zeigte sich, daß die beiden Stämme nicht unterschiedlich empfindlich waren, was den Ergebnissen einer besonderen Versuchsserie unseres Institutes entspricht. WAGNER (unveröffentlicht) hatte in rund 700 Versuchen 65 *Colletotrichum*stämme gegen sechs als Antibionten unterschiedlich aktive Aktinomyceten getestet und keine Unterschiede in der Empfindlichkeit gefunden.

Im ersten Versuch mit Komposterde war der Aktinomycet G 35 (1 ml einer Sporensuspension) vier Tage vor *Colletotrichum* (1 ml der üblichen Konidiensuspension) auf sterile Komposterde in Erlenmeyerkölbchen geimpft worden. Das entspricht der doppelten Vorlaufszeit, die der Aktinomycet auf Agarplatten erhalten hatte. Kontrollkölbchen wurden jeweils nur mit G 35 bzw. nur mit *Colletotrichum* beimpft.

Die tägliche Kontrolle während des Bebrütens (28 ° C) ließ schon nach vier Tagen Luftmyzel von *Colletotrichum* beobachten. Die Auswertung nach wiederum zehn Tagen zeigte eindeutig in allen Kölbchen Luftmyzel in einer Stärke, wie es auch in den Kontrollkölbchen entwickelt worden war. Die Anwesenheit des Aktinomyceten konnte an dem weißen Überzug der Erdpartikel erkannt werden und war von dem Luftmyzelflaum des *Colletotrichum* deutlich zu unterscheiden. Zur Bestätigung impfte ich noch von der Erdkultur auf Waksman-Agar[1]) ab und konnte beide Organismen reisolieren.

[1]) Stärke-Malz-Agar für Aktinomyceten, variiert nach WAKSMAN, 10 g Stärke, 5 g Malzextrakt, 1 g $MgCO_3$, 1 g $NaNO_3$, 0,5 g NaCl, 0,3 g K_2HPO_4, 30 g Agar ad 1 Liter Aqua dest. (pH 7,2).

Das vorliegende negative Ergebnis überraschte mich, brachte mich jedoch auf den Gedanken, daß ein so inhomogenes und stark adsorbierendes Substrat wie Boden im Gegensatz zu den leicht diffundiblen Agarmedien keine einheitlichen und weitreichenden Wirkungen erwarten läßt. Weiterhin ließ der Mangel zur Antibiotikabildung notwendiger Kohlenhydrate, sowie die Adsorptionsfähigkeit darauf schließen, daß die Vorlaufzeit des Aktinomyceten im Boden zu kurz gewählt worden war. Ich wiederholte deshalb den gleichen Versuch und erhöhte lediglich die Vorlaufszeit des Aktinomyceten von vier auf 14 Tage.

Rückimpfung auf Waksman-Agar nach zehn und 20 Tagen bestätigten meine Vorstellungen. Es konnte nur der Aktinomycet reisoliert werden. Die Konidien von *Colletotrichum atramentarium* waren nach 14tägiger Vorlaufszeit des Aktinomyceten in allen Versuchskölbchen getötet worden. Wären sie latent lebend geblieben, dann hätten sie entsprechend den günstigen Ernährungsbedingungen des Waksman-Agars am Rande der Aktinomycetenkolonie zur Entwicklung kommen müssen, weil in diesem Falle der Aktinomycet keinen Vorlauf hatte. Die Versuche bestätigen, daß die bei Vitaltesten auf Agarmedien beobachtete Abhängigkeit der antibiotischen Wirkung von der Vorlaufszeit des Antibionten in noch viel höherem Maße in Erscheinung tritt, wenn steriler Boden als Substrat gewählt wird. Impfe ich z. B. gleichzeitig mit dem Schadpilz *Colletotrichum* eine Sporensuspension eines aktiven Aktinomyceten auf sterilen Boden, so wirkt der Aktinomycet anfangs nicht als Antibiont, sondern nur als schwacher Konkurrent. Die Konidien des Schadpilzes können zur Entwicklung kommen, das auswachsende Myzel gewinnt einen entscheidenden Vorsprung und die *Colletotrichum*kultur wirkt als Konkurrent bezüglich des Nährsubstrates. Je größer das Zeitintervall zwischen der Beimpfung mit dem antibiotischen Aktinomyceten und der Beimpfung mit *Colletotrichum* ist, desto mehr kommt der Aktinomycet in den Vorteil, und um so stärker tritt sein antibiotischer Faktor hervor. Kommt *Colletotrichum atramentarium* in natürlich belebte Erde, so trifft er auf eine Vielzahl biotischer Hemmungszustände. Das „saprophytische Exil" muß ihm dann zum Verhängnis werden.

II. Über die Lebensdauer der Sklerotien (Acervuli) des Pilzes im Boden und im Kompost

Aus den Versuchen, über die im ersten Teil der vorliegenden Abhandlung berichtet wurde, ging hervor, daß der Pilz *Colletotrichum atramentarium* potentiell ein Bodensaprophyt sein kann. Er findet im Boden nicht völlig befriedigende, aber minimal zureichende Lebensbedingungen. In jedem Falle begegnet er aber im Boden starken antibiotischen Wirkungen von Aktinomyceten und Bakterien, die ihn nicht nur mycostatisch beeinflussen, sondern bei ihm auch eine Lysis verursachen können, die zum Letaleffekt führt. Das Keimen der Konidien, das Wachstum und das Fruktifizieren des Pilzes sind deshalb im Boden nicht möglich. Hieraus ist zu erklären, daß *Colletotrichum atramentarium* in der Regel nicht aus dem Boden zu reisolieren ist. Wie ist

es aber mit den zwar seltenen, jedoch immerhin möglichen Ausnahmen? Welche Rolle spielen hierbei die Sklerotien (Acervuli) als Überdauerungsorgane und wieweit ist ein Pilz, der im Boden wegen der Antibionten nicht lebensfähig ist, in seinen sklerotischen Dauerorganen gegen den Angriff der die Zersetzung bewirkenden Mikroorganismen geschützt?

Die Sklerotien (Acervuli) des *Colletotrichum atramentarium* sind von SCHMIEDEKNECHT (1956) näher untersucht worden. Wie Schnitte zeigten, bestehen diese Gebilde im Inneren aus einem Prosoplektenchym. Die Außenschicht dagegen ist paraplektenchymatischer Natur und deshalb für die Widerstandsfähigkeit von besonderer Bedeutung. Außerdem werden bei der Bildung der Sklerotien (Acervuli) Pigmente in die Hyphenwände eingelagert, deren Natur noch nicht bekannt geworden ist, die aber sehr wahrscheinlich gegenüber mikrobiellen Angriffen eine konservierende Wirkung ausüben.

Für die Untersuchung der Lebensdauer der Sklerotien (Acervuli) standen mir zwei Wege offen:

1. An Hand von Kartoffelkraut, das bereits verkompostierte, Nachprüfungen vorzunehmen.
2. Sklerotienhaltiges Material selbst zu vergraben und in bestimmten Zeitabständen Proben zu entnehmen.

Beide Wege wurden gleichzeitig beschritten. Dabei waren bei einer großen Lebensdauer (mehrere Jahre) Ergebnisse vor allem von der ersten Untersuchungsmöglichkeit zu erwarten, während die zweite zunächst nur den Zeitraum des laufenden Jahres näher erfassen konnte. Bei mittlerer Lebensdauer (wenige Jahre) hätten möglicherweise beide Untersuchungsverfahren sich ergänzt und eine gegenseitige Kontrolle abgeben können.

1. Versuche zur Isolierung aus Kartoffelkrautkompost

Das Material wurde im Oktober des Jahres 1955 einem Haufen Kartoffelkraut (bei Leislau) entnommen, das in dem Zeitraum von 1950 bis 1953 Jahr für Jahr aufeinandergeschichtet und zur Kompostierung ohne Zusatz von Erde sich selbst überlassen worden war. Die einzelnen Proben entnahm ich an der Oberfläche, in $^3/_4$ m Tiefe und an der Basis des etwa 2 m hohen Haufens. In gleicher Weise kam Material eines jüngeren Kartoffelkrautkompostes aus der Nähe von Naumburg zur Untersuchung.

Aus den Proben wurden befallene Stengel ausgesucht und unter einem scharfen Wasserstrahl mehrere Stunden gereinigt. Ein Teil der Stengel wurde noch mit Hydramon[1]) (2 %, 2′) zu desinfizieren versucht, wobei erfahrungsgemäß lebende Acervuli nicht getötet werden konnten. Darauf legte ich alle Stengelteile in sterilen Petrischalen aus, wo sie unbedeckt über Nacht im Brutschrank trockneten.

Die eigentliche Prüfung, ob die Sklerotien (Acervuli) noch lebten, erfolgte in Petrischalen auf Malzagar. Es wurden meist vier Stengelstückchen

[1]) Zusammensetzung: Dimethylaminoessigsäuredodecylamidchlorbenzylat 10,0, Natr. phosph. 2,0, Natr. nitros. 1,0, Aqua dest. ad 100,0.

mit Hilfe einer ausgeglühten Pinzette unmittelbar auf das Agarmedium ausgelegt. Um in jedem Falle eine Kontrolle zu haben, trug ich auf ein weiteres Stengelstückchen vorher etwa 5 bis 10 Sklerotien aus Agarkulturen einseitig auf, um es dann mit dieser Seite quer zu den anderen aufzulegen (Abb. 2).

Diese Versuchsanordnung brachte den Vorteil, daß ich nicht blindlings Stengelstückchen prüfte, ohne eine Beziehung zu der Auskeimkraft frischer Sklerotien zu haben. Sie zeigte mir weiterhin, ob die Keimverarmung der geprüften Stengel ausreichte, um überhaupt ein Auswachsen des Pilzes zu ermöglichen. Die Keimverarmung wurde dann als ungenügend angesehen, wenn die frisch zugesetzten Sklerotien der Kontrollstengel nicht auskeimten. Die Tabellen 2, 3 und 4 geben die Ergebnisse des nach dieser Methode geprüften Stengelmaterials wieder.

Abb. 2. Versuchsanordnung zur Lebensdauerprüfung von Stengelstückchen, die bereits einige Jahre verkompostierten. Das Durchlichtfoto zeigt unten die Kontrolle. *Colletotrichum atramentarium* ist ausgewachsen und hat in der Mitte andere Pilze verdrängt

Die Agarplatten wurden zur Sicherheit bis zu 20 Tagen bebrütet, da Beobachtungen an Kontrollstückchen darauf hindeuteten, daß beginnende Austrocknung des Agars ein Anreiz für die Sklerotienbildung sein konnte. Da *Colletotrichum atramentarium* durch die Bildung seiner charakteristischen Sklerotien sich sehr gut zu erkennen gibt, war auf „den ersten Blick" eigentlich nur eine Verwechslung mit gleichgroßen Perithezien von Ascomyceten möglich. Doch war in diesem Falle die Entscheidung durch mikroskopische Kontrolle nicht schwierig. Erschwert wurde die Auswertung vor allem durch stark wuchernde Pilze, wie z. B. *Rhizopus*-Arten, *Fusarien, Penicillium*- und *Aspergillus*-Arten. In solchen Fällen ist die Auswertung der Platte von der Rückseite aus begonnen und nach vorsichtigem Abtragen der Pilzdecke von der Oberfläche her fortgesetzt worden. Schließlich wurde jedes einzelne Stengelstückchen entfernt und die Auflagestelle genau nachgesehen. Die Einzelergebnisse sind in den Tabellen 2, 3 und 4 zusammengefaßt.

Versuche zur Isolierung von *Colletotrichum atramentarium* aus Kartoffelkraut, das ohne Zusatz von Erde über zwei Jahre verkompostierte, hatten also durchweg negative Ergebnisse. Die im Rahmen dieser Untersuchungen

Tabelle 2

Material Leislau

Stengelteile den tieferen Schichten des Komposthaufens entnommen, Alter etwa fünf Jahre

Platte	Hydramon	Kontrolle	*Colletotr. atrament.*	vorherrschende Pilze	Stengelstückchen
1	ohne	keine	—	Perithezienbildner	3
2	ohne	keine	—	Perithezienbildner	3
3	ohne	keine	—	Perithezienbildner	3
4	ohne	keine	—	Perithezienbildner	3
5	mit	keine	—	*Penicillium*- und	4
6	mit	keine	—	*Aspergillus*-Arten	4
7	mit	keine	—	*Penicillium*- und	3
8	mit	keine	—	*Aspergillus*-Arten	4
9	mit	keine	—	sowie Phycomyceten	3
10	mit	keine	—	Perithezienbildner	3
11	mit	+	—	Perithezienbildner	4
12	mit	+	—	Perithezienbildner	4
13	mit	—	—	Perithezienbildner	4
14	mit	+	—	Perithezienbildner	4
15	mit	+	—	*Rhizopus*-Arten	4
16	mit	+	—	Perithezienbildner	4
17	mit	+	—	*Penicillium*- und	4
18	mit	+	—	*Aspergillus*-Arten	4
				sowie Bakterien	4
19	mit	+	—	*Fusarien*	4
20	mit	+	—	*Fusarien*	4
21	ohne	+	—	Perithezienbildner	4
22	ohne	+	—	und *Penicillium*-Arten	4
23	ohne	+	—	Perithezienbildner	4
24	mit	+	—	*Penicillium*- und	4
25	mit	+	—	*Rhizopus*-Arten	4
26	mit	+	—	Bakterien und *Penicillium*-Arten	4

Tabelle 3

Material Leislau

Stengelteile der Oberfläche entnommen, Alter etwa zwei Jahre

Platte	Hydramon	Kontrolle	*Colletotr. atrament.*	vorherrschende Pilze	Stengelstückchen
1	ohne	—	—		4
2	ohne	—	—	*Penicillium*- und	4
3	ohne	+	—	*Aspergillus*-Arten	4
4	ohne	+	—		4
5	ohne	+	—	*Fusarien*	4
6	ohne	+	—	*Fusarien*	4
7	mit	+	—		4
8	mit	+	—	*Fusarien*- und	4
9	mit	+	—	*Penicillium*-Arten	4
10	mit	+	—		4
11	mit	—	—	*Penicillium*- und	4
12	mit	+	—	*Aspergillus*-Arten sowie *Fusarien*	4

Tabelle 4

Material Naumburg

Stengelteile in etwa 25 cm Tiefe entnommen, mit Erde abgedeckt, Alter etwa zwei Jahre

Platte	Hydramon	Kontrolle	*Colletotr. atrament.*	vorherrschende Pilze	Stengelstückchen
1	ohne	+	—		5
2	ohne	+	—	*Penicillium*- und	5
3	ohne	+	—	*Aspergillus*-Arten	5
4	mit	+	—	sowie *Fusarien*	5
5	mit	+	—		5
6	mit	—	—		5
7	ohne	+	—	*Fusarien* und	5
8	ohne	+	—	*Aspergillus*-Arten	5
9	mit	+	—		5
10	mit	+	—	Fusarien	3

eingeführte Kontrolle zeigte, daß die saprophytische Mikroflora, die den Stengelteilen noch anhaftete, kein Faktor sein konnte, der in allen Fällen das Auskeimen der an den Stengeln noch vorhandenen Sklerotien hätte verhindern können. Es muß deshalb aus diesen Versuchen gefolgert werden, daß im Falle des Materials Leislau das mehrjährige Verweilen im Komposthaufen und im Falle des Materials Naumburg das längere Kompostieren mit Boden an den Sklerotien Veränderungen herbeigeführt haben, die sie abtöteten oder soweit schädigten, daß sie selbst auf den sonst günstigen Agarmedien unter den angegebenen Bedingungen nicht mehr auszukeimen vermochten.

2. Versuche zur Isolierung aus Sklerotienmaterial, das in Töpfen vergraben worden war

Der negative Ausfall der Versuche, *Colletotrichum atramentarium* aus Stengelteilen zu isolieren, die mehr als ein Jahr den Vorgängen des Verrottens preisgegeben waren, ließ von der zweiten Untersuchungsmöglichkeit, bei der das Material auf Grund einer Versuchsanordnung vergraben worden war, eine weitere Einengung der Lebensdauer erwarten.

Ein erster Lebensdauerversuch wurde am 15. August 1954 angesetzt. Vor diesem Zeitpunkt waren Glasringe (20 mm ⌀) unter sterilen Bedingungen mit Malzagar gefüllt und doppelseitig mit *Colletotrichum* beimpft worden. Diese Kulturen wurden so lange im Thermostaten bebrütet, bis die Agarmasse völlig mit Sklerotien durchsetzt und eine Nährstofferschöpfung eingetreten war. Inzwischen wurde eine Reihe von Blumentöpfen mit Komposterde, Felderde, Sanderde und Quarzsand bis zur halben Höhe gefüllt und in dieses Niveau fünf bis zehn „Glasringkulturen" ausgelegt. Zum Schluß ist die gleiche

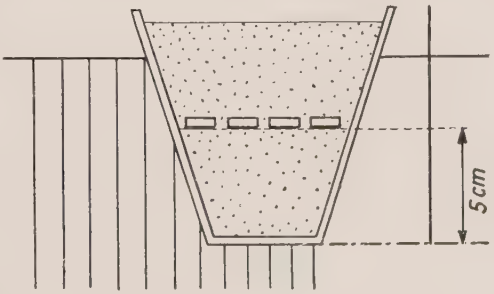


Abb. 3

Erde bis zum Rand der Töpfe aufgeschüttet worden. Die Töpfe vergrub ich so in die Erde, daß ihr oberer Rand nur wenig über die Erdoberfläche herausragte (Abb. 3).

Nach acht Monaten, am 16. April 1955, wurden die Kulturen durch vorsichtiges Abtragen der über den Glasringen liegenden Erde wieder ausgegraben. Die Agarkulturen waren stark geschrumpft und hafteten nur noch ganz leicht an den Glasringen.

Die sklerotientragenden Agarteilchen wurden getrennt nach Böden eingesammelt und mit einem Wasserstrahl mehrere Stunden gereinigt. Nach dem Trocknen gelang es mit der Impföse leicht, oberflächliches Sklerotienmaterial zu entnehmen und auf Malzagarplatten zu verteilen. Nach entsprechender Bebrütung war im Falle der benutzten Böden eine Auswertung von der offe-

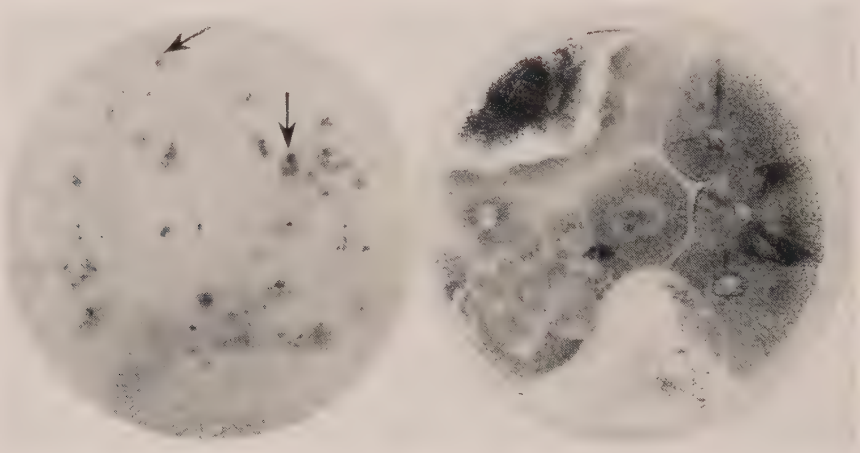


Abb. 4 (links). Reisolation von *Colletotrichum atramentarium* aus Sanderde. Platte wurde wegen Überwucherung mit anderen Pilzen von unten fotografiert. An den beiden mit Pfeilen angedeuteten Stellen konnte ein schwaches Auskeimen von Sklerotien festgestellt werden. — Abb. 5 (rechts). Reisolation von *Colletotrichum atramentarium* aus Quarzsand. Die Sklerotien sind in ihrer Keimkraft nicht beeinträchtigt

nen Seite der Mischkulturen aus unmöglich. Da jedoch *Colletotrichum atramentarium* „normalerweise" immer vom Substratmyzel aus Sklerotien bildet, so geht man ebenfalls sicher, wenn man die Platten von der Unterseite her auswertet. Die Reisolierungsversuche aus Böden zeigten besonders im Falle von Komposterde die bekannte „desinfizierende" Wirkung. Felderde hatte eine ähnliche Wirkung, dagegen war Sanderde biologisch weniger aktiv. So konnte auf der fotografierten Platte an zwei Stellen noch ein schwaches Auskeimen beobachtet werden (Abb. 4).

Der Versuch erhielt seine deutliche Gegenüberstellung durch die mitgeführte „Quarzsandkontrolle". Die Sklerotien ließen nach Isolierung aus Quarzsand keine Beeinträchtigung ihrer Keimkraft erkennen, obgleich sie in gleicher Weise den Unbilden des winterlichen Wetters ausgesetzt waren.

Der „Glasringagarversuch" konnte nur als Vorversuch gewertet werden. Es kann hier der gewichtige Einwand erhoben werden, daß das Haften der Sklerotien an einem Substrat, das ganz anders beschaffen ist als der natürliche Pflanzenstengel, besonders im Hinblick auf den mikrobiellen Angriff, zu unkontrollierbaren Vorgängen führt, die letztlich auf die Lebensdauer der Sklerotien von Einfluß sein können. Um diesem Einwand zu begegnen, war es notwendig, den Hauptversuch mit Sklerotien durchzuführen, die sich im und am Wirt unter sehr natürlichen Bedingungen entwickelt hatten.

Ich sammelte im März und April des Jahres 1955 in der Umgebung von Jena sklerotienhaltiges Stengelmaterial. Wie noch näher ausgeführt wird, zeigten die auf Wiesen und Feldern überwinterten „Stengelsklerotien" keine Beeinträchtigung ihres Keimvermögens (Vergleich mit Sklerotien von Agarringkulturen).

Für den Versuch wurden Stengelteile ausgesucht, die am Wurzelhals große und unter der Rinde festsitzende Sklerotien (Acervuli) aufwiesen. Es war hierdurch einmal die Gewißheit gegeben, daß die widerstandsfähigsten dieser Dauerorgane zur Prüfung kamen; weiter ließen sich diese Sklerotien beim Reisolieren leichter auffinden und abtrennen als die kleinen, die in der Rinde zu finden waren. Die ausgesuchten Stengelteile wurden unter dem Wasserstrahl einige Stunden gereinigt und nach dem Trocknen einzeln — durch Abtrennen weniger Sklerotien auf Agarplatten — auf ihre Lebensfähigkeit geprüft. Keimten diese Kontroll-Sklerotien nicht aus, so wurde der betreffende Stengelteil verworfen.

In den Versuch wurden folgende Böden einbezogen:

Komposterde (Botanischer Garten)	pH 7,5
Felderde (Lehm, Jena)	pH 7,7
Erde (Institutsgarten)	pH 8,1
Erde (Naumburg)	pH 7,8
Erde (Lobenstein)	pH 5,6
Sanderde (Rothenstein)	pH 7,5
Schwarzerde (Aschersleben)	pH 7,9
Quarzsand	—

Da größere Mengen nur von der Komposterde, der Felderde, der Institutsgartenerde und der Sanderde zur Verfügung standen, mußten eingehende Untersuchungen auf diese beschränkt werden. Die anderen Böden liefen gleichsam als Parallelen mit.

Das Vergraben der geprüften und als gut befundenen Stengelteile erfolgte in der gleichen Weise wie im Vorversuch. Nur traten an die Stelle der „Agarglasringkulturen" die erwähnten Stengelteile. Außerdem wurden die Töpfe in ein Rasenstück eingegraben. Die Grasnarbe wurde dabei wieder sorgfältig um die Töpfe geschlossen. So konnte ein allmähliches Verfälschen der Mikroflora ortsfremder Böden durch Regenspritzer vermindert werden.

Die Vergrabungstermine erstreckten sich vom 20. April 1955 bis 2. Oktober 1955. In einem Monat nahm ich in der Regel zwei Vergrabungen vor. Die Verteilung der Termine auf über fünf Monate verfolgte den Zweck, bei der für Mai bis Juni des Jahres 1956 beabsichtigten Hauptprüfung eine gewisse „Skala verschieden bodenalter" Stengelteile zur Verfügung zu haben.

Die erste vorläufige Auswertung fand nach fünf Monaten, am 18. September 1955, statt. Dabei handelte es sich um sklerotienhaltige Stengelteile, die am 20. April 1955 in Feld- und Komposterde vergraben worden waren. Ich fand die Stengelteile noch gut erhalten und nur wenig verändert. Sie wurden wie in den vorangegangenen Versuchen gereinigt, nach dem Trocknen stückweise auf sterile Agarplatten gelegt und 14 Tage im Thermostaten bei 28 ° C bebrütet.

Abb. 6. Gegenüberstellung von befallenen Stengelteilen, die acht Monate in Böden verschiedener biologischer Aktivität vergraben worden waren. Links: Stengelteil aus Komposterde. Mitte: Stengelteil aus Felderde. Rechts: Stengelteil aus Quarzsand (Kontrolle)

Das Untersuchungsergebnis konnte am leichtesten dadurch gewonnen werden, daß das Verhältnis der ausgekeimten zu den nicht ausgekeimten Stengelstückchen festgestellt wurde (Tab. 5). Es muß jedoch betont werden, daß die angegebenen Zahlen nur Annäherungswerte darstellen, da die Stengelstückchen nicht nur in der Größe differierten, sondern auch unterschiedlich stark befallen waren. Außerdem konnte die Begleitflora, die dem Material noch anhaftete, von Stengel zu Stengel ungleich sein und *Colletotrichum atramentarium* am Auskeimen verschieden stark behindern. Diesem unkontrollierbaren Faktor muß es auch zugeschrieben werden, daß in einem Falle der Pilz leicht zum Wachstum kam, wenn die Sklerotien vom Stengelstück abgelöst und allein auf den Agar gebracht wurden, wogegen das Keimen der Sklerotien ganz aufgelegter Stückchen negativ blieb, im anderen Falle aber das Umgekehrte zu beobachten war.

Tabelle 5

Auskeimergebnis der in Kompost- und Felderde vergrabenen Stengelstückchen nach fünf Monaten

Platte	*Colletotrichum atramentarium* reisoliert aus			
	Komposterde		Felderde	
	gekeimt	nicht gekeimt	gekeimt	nicht gekeimt
1	4	0	3	1
2	1	3	4	0
3	3	1	3	1
4	3	1	4	0
5	4	0	4	0
	75%	25%	90%	10%

Die zweite Auswertung erfolgte nach acht Monaten. Das um den 20. Dezember 1955 ausgegrabene Material zeigte gegenüber dem des letzten Versuches bemerkenswerte Unterschiede, die nach Bodenart kurz beschrieben werden sollen (Abb. 6).

a) Stengel in Komposterde vergraben: Die äußeren Teile des rindenlosen Stengels waren durch Schrumpfen des Querschnittes stark längsgefurcht. Die Sklerotien traten nicht mit der ursprünglichen Deutlichkeit hervor. Eingehende mikroskopische Studien ließen bei Auflicht erkennen, daß neben noch vielen vorhandenen Sklerotien an der Stengeloberfläche tiefschwarze Einbuchtungen vorhanden waren, in denen ursprünglich Sklerotien gesessen hatten. Diese freien Sklerotienlager waren darauf zurückzuführen, daß das Stengelgewebe unter ihnen stark gelockert worden war, so daß die Sklerotien der Reinigungsprozedur nicht mehr widerstanden und abgespült wurden. Es blieben dabei aber noch soviel Sklerotien am Lager haften, daß der Versuch nicht abgebrochen werden mußte.

b) Stengel in Felderde vergraben: Auch hier war deutlich eine Längsfurchung zu erkennen. Jedoch sind die Sklerotien dabei nicht so sehr gelockert worden. Im Mikroskop konnten auffallende morphologische Veränderungen nicht festgestellt werden.

Tabelle 6

Auskeimergebnis der in Kompost- und Felderde vergrabenen Stengelstückchen nach acht Monaten

Platte	*Colletotrichum atramentarium* reisoliert aus			
	Komposterde		Felderde	
	gekeimt	nicht gekeimt	gekeimt	nicht gekeimt
1	0	5	5	0
2	0	5	5	0
3	0	5	1	4
4	0	5	5	0
5	0	5	1	4
	0%	100%	68%	32%

c) Stengel aus Quarzsand (Kontrolle): Stengelstückchen, die während des gleichen Zeitraumes in Quarzsand vergraben worden waren, zeigten keine Spuren eines mikrobiellen Angriffes. Gleich dem im Labor aufbewahrten Material saßen die Sklerotien unversehrt der glatten Oberfläche auf, von der sie leicht abgetrennt und auf Malzagar zur Auskeimung gebracht werden konnten.

Das Stengelmaterial wurde wie im vorangegangenen Versuch gereinigt, auf Agarplatten gebracht und bebrütet. Die Ergebnisse gibt Tabelle 6 wieder.

Tabelle 7

Auskeimergebnis der in Komposterde vergrabenen Stengelstückchen nach acht Monaten (Wiederholung)

Platte	*Colletotrichum atramentarium* reisoliert aus Komposterde	
	gekeimt	nicht gekeimt
1	0	5
2	0	5
3	0	5
4	1	4
5	2	3
6	0	5
	10%	90%

Während das für Felderde gewonnene Ergebnis sich gut in den Rahmen der bisherigen Untersuchungen einfügte, überraschte das völlige Ausbleiben einer Auskeimung im Falle des aus Komposterde geborgenen Materials. Ich wiederholte deshalb diesen Versuch, indem ich nochmals am gleichen Zeitpunkt in Komposterde vergrabene Stengelteile in der angegebenen Weise prüfte. Es ging um die Gewißheit, ob man schon nach acht Monaten Verweilen in biologisch aktiver Erde mit einem Erlöschen der Lebensfähigkeit der Sklerotien rechnen kann (Tab. 7). Das 10%ige Auskeimen bezeugt nicht die Unfehlbarkeit der Methode, aber immerhin einen Effekt, der die Bedeutung der biologischen Aktivität des Bodens eindringlich demonstriert.

3. Die Sklerotien von freiliegend überwintertem Kartoffelkraut

Bisher ist das Verhalten von *Colletotrichum atramentarium* an abgestorbenen Wirtsteilen im Boden geprüft worden. Hier sollen nun noch andere Arten der Erhaltung und Verbreitung des Pilzes besprochen werden, wie sie durch abgestorbene Teile des Wirtes außerhalb des Bodens möglich sind.

Über die allgemeine Verbreitung von *Colletotrichum atramentarium* liegen Angaben vor. HORSCHAK (1954) berichtet, daß sämtliche Einsendungen von Kartoffelkrautproben aus 860 Landgemeinden die charakteristischen sklerotienartigen Acervuli aufzuweisen hatten. Sie fand unter 10 330 nicht einen Kartoffelstengel, an dem die Sklerotien nicht festzustellen waren. Wenn man dann beobachtet, wie auf dem Lande und in den Randgebieten der

Städte abgestorbenes Kartoffelkraut überjährig in der Gegend herumliegt, dann erhebt sich von selbst die Frage nach der Bedeutung des achtlos weggeworfenen Krautes als alljährliche Infektionsquelle.

Im März 1955 unternahm ich in der Umgebung von Jena und an anderen Orten ausgedehnte Freilandbeobachtungen, um zu prüfen, wie weit die winterliche Kälte die Vitalität der Sklerotien (Acervuli) des im Freien an der Luft überwinterten Kartoffelkrautes beeinflußt hatte. Ich sammelte zu diesem Zwecke auf dem Lande systematisch sklerotienhaltiges Material. Nach der üblichen Reinigung wurden die Sklerotien mit einem entkeimten Skalpell vom Kraut abgetrennt und auf Agarplatten gebracht. Der Pilz hatte mit Hilfe seiner Dauerorgane in fast allen Fällen seine Lebensfähigkeit bewahrt. Die Sklerotien keimten aus, und es bildeten sich Konidien.

Weil die überall massenhaft herumliegenden sklerotienhaltigen Wirtsreste trotz Überwinterung infektiös waren, erhob sich die Frage, ob durch Wind eine weitere Verbreitung möglich sei. Um dies zu prüfen, führte ich Ende Juli—Anfang August auf einem abgeernteten Feldstreifen bei Jena Versuche mit einjährig überwintertem Kartoffelkraut durch. Die Versuche bestanden darin, daß ich in die Mitte des freien Feldstreifens das Kartoffelkraut etwa einen Meter hoch aufschichtete und im Windschatten des Haufens Petrischalen mit Malzagar als Fangplatten in abgestuften Entfernungen aufstellte. Als Kontrollen dienten vom Kartoffelkraut aus gegen die Windrichtung angeordnete Petrischalen. Die fünf ausgeführten Fangversuche haben ihr Vorbild in der Abbildung 7.

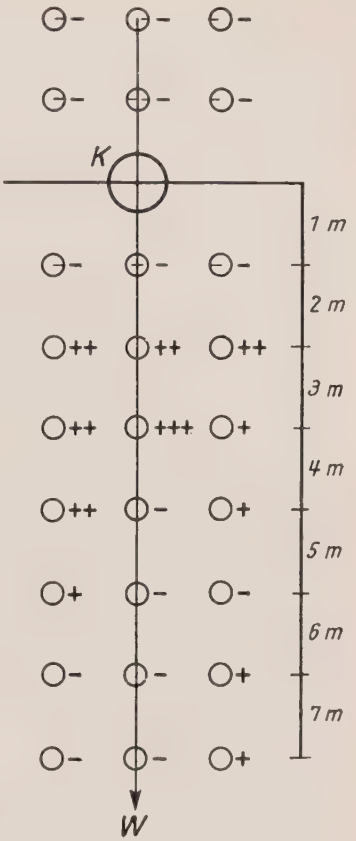


Abb. 7. Vom aufgeschichteten Kartoffelkraut K aus wurden in einem Meter Abstand in der Richtung W, d. h. in der des Windschattens, Agarplatten ausgelegt. Die Kreuze zeigen die Hauptbefallsstellen der fünf ausgeführten Versuche an. Weitere Einzelheiten im Text

Von klimatischen Faktoren ist hervorzuheben, daß die Versuche nur an trockenen Sommertagen und dann auch erst in den Nachmittagsstunden vorgenommen wurden. Die Windstärke, die nicht näher bestimmt wurde, wechselte etwas. Die Öffnungsdauer der Platten betrug im Mittel 5 Minuten. Da sich im ersten Versuch herausstellte, daß der Befall sehr gering war, hob ich in den folgenden das Kartoffelkraut bis Brusthöhe mehrere Male während der Öffnungszeit auf und nieder. Die Zahl der Befallsstellen auf den Platten wurde dadurch wesentlich erhöht; sie erreichte im Maximum sechs. Bei allen Versuchen war der Befall in einem Abstand von zwei bis drei Metern am

stärksten. Über fünf Meter hinaus konnte nur in wenigen Fällen eine Befallsstelle festgestellt werden. Die gegen die Windrichtung aufgestellten Kontrollen blieben immer frei von *Colletotrichum atramentarium*. Es muß jedoch einschränkend bemerkt werden, daß es ungewiß ist, ob die Infektion der Platten durch von den Sklerotien abgeschnürte Konidien oder durch winzige mit der Rinde abgeblätterte Sklerotienteile erfolgte. Damit zeigen die Versuche nur die praktische Möglichkeit auf, daß stärkere Luftbewegungen von überwintertem Kartoffelkraut „Keime" fortzutragen vermögen. Wie weit mit stärkeren Luftbewegungen, mit Böen, Auf- und Fallwinden diese Verbreitungsmöglichkeit gefördert wird, kann nach den wenigen Versuchen nicht gesagt werden. Auf jeden Fall muß wegen des massenhaften Vorkommens von sklerotienbesetztem, trockenen Kartoffelkraut im Frühjahr und wegen der prinzipiellen Möglichkeit des Verwehtwerdens von Sklerotien und Konidien die Infektion von Kartoffelstauden durch verwehte Keime beachtet werden.

Die oben beschriebenen Umstände sind wahrscheinlich Ursachen alljährlicher Neuinfektionen. Sie sind aber nicht die einzigen Quellen, aus denen heraus dem Erreger der Befall der Kartoffelstauden möglich ist. Wie aus einer anderen Arbeit unseres Institutes hervorgehen wird, gibt es noch die Möglichkeit einer Propagation des Pilzes durch Übertragung in die Klonfolgen der Stauden. Es ist deshalb auch zu erwarten, daß die Staude auf dem Kartoffelacker Quelle von Neuinfektionen anderer Stauden sein kann. Für eine Beantwortung dieser Frage mußte der Konidienflug im Kartoffelacker beobachtet werden.

Das Versuchsfeld Zwätzen bei Jena bot mit seinen verschiedenen Kartoffelsorten gute Voraussetzungen für Konidienversuche in lebenden Kartoffelbeständen. Ich legte deshalb an den gleichen Tagen des oben geschilderten Versuches Agarplatten auch zwischen Kartoffelstauden aus. Einige Sorten zeigten auffällige Welkesymptome, und es kam vor, daß abgewelkte Stauden wenige Meter neben frisch grünen standen. Es erschien reizvoll, gerade diese Gegensätze als Versuchsbasis zu wählen. Ich öffnete deshalb einen Teil der Platten unter abwelkenden und den anderen unter grünen Stauden.

Von fünf Versuchen verliefen vier völlig negativ. Erst der letzte Fangversuch, den ich am 23. August 1955 durchführte, verlief positiv in dem Falle, daß die Platten zwischen Stauden ausgelegt worden waren, deren Stengel durch Welke völlig dürr waren. Das Ergebnis sagt aus, daß Kartoffelbestände als Infektionsquelle dann in Frage kommen, wenn die Konidien abschnürenden Sklerotien (Acervuli) aus dem Stengelinnern durch das äußere Gewebe nach außen durchgestoßen sind. Erst zu diesem Zeitpunkt ist an trockenen Tagen eine Verbreitung durch Wind und an Regentagen eine Verbreitung durch Regentropfen denkbar.

Besprechung der Ergebnisse

Nachdem SCHMIEDEKNECHT (1956) die Parasitennatur des *Colletotrichum atramentarium* (B. et Br.) Taub. nachgewiesen hatte, mußte untersucht wer-

den, ob der Pilz als fakultativer Parasit auch Bodensaprophyt sein kann. Es ging dabei um die Beantwortung der wichtigen Frage, ob der Erreger der Dürrewelke unserer Kartoffel im Boden ein „saprophytisches Asyl" (GÄUMANN 1951) finden und von dort aus alljährlich erneut die Stauden infizieren kann. *Colletotrichum atramentarium* kann zweifellos in noch nicht verwesten toten Pflanzenteilen leben, Konidien bilden und Sklerotien entwickeln. Offenbar ist dieser Saprophytismus aber für den Pilz nicht die optimale Lebensweise, denn dort, wo der verwesende Pflanzenteil natürlicherweise hingerät, nämlich in den Ackerboden oder in verkompostierende Haufen, trifft er auf antagonistisch wirkende Mikroorganismen, die nicht nur Myzel und Konidien, sondern nach einiger Zeit auch die resistenteren Sklerotien vernichten können. So kommt es, daß der Pilz nicht aus der Ackererde isoliert werden kann und auch nicht zu reisolieren ist, wenn er in Form von Konidien in belebte Bodenproben hineingebracht wird.

Ist der Pilz auch kein Bodensaprophyt, so lehren jedoch die vorläufigen Untersuchungen zur Lebensdauer seiner Sklerotien (Acervuli) im Boden, daß man bei wiederholtem Anbau von Kartoffeln in mikrobenärmeren Böden mit Bodeninfektionen rechnen muß. Es erscheint dagegen unmöglich, daß nach mehrjähriger Unterbrechung des Kartoffelanbaues derartige Infektionen zustande kommen können, da die Dauerorgane von *Colletotrichum atramentarium* in dieser Zeit durch die mikrobielle Tätigkeit des Bodens zerstört werden. Es müssen noch Versuche mit der Kartoffelpflanze meine auf mikrobiologischer Analyse beruhenden Aussagen bestätigen und vertiefen.

Die Colletotrichose hat viele und ständig fließende Infektionsquellen. Dennoch scheint für eine epidemische Ausbreitung die Übertragbarkeit in der Klonfolge von der Mutterstaude durch die geerntete Pflanzknolle in die Tochterstauden die Hauptrolle zu spielen, denn die biotischen Faktoren, auf die der Erreger im Boden trifft, beschränken seine Existenz außerhalb der Kartoffelpflanze weitgehend.

Zusammenfassung

1. *Colletotrichum atramentarium* (B. et Br.) Taub. sporuliert auf sterilen Böden nicht oder zumindest so schwach, daß bei Anwesenheit der Erdpartikel ein mikroskopisches Erkennen schwierig ist.

2. Es wird nachgewiesen, daß der Pilz auf einem sterilen Boden mittleren Nährstoffgehaltes gerade noch die Voraussetzungen für eine Sklerotienbildung findet. Substanzen mit Kohlenhydratcharakter, vor allem Stroh und andere pektin- und zellulosehaltige Überreste von Pflanzen, fördern das Wachstum und wirken bei Ausschaltung der übrigen Mikroflora im Boden als Fangstückchen. Die Nährstoffarmut kann für die Entwicklung des Pilzes in Erde ein begrenzender Faktor sein, schließt aber in abiotischer Hinsicht die Möglichkeit, darin vorzukommen, nicht aus.

3. Versuche mit Antibionten auf steriler Komposterde zeigen, daß nach entsprechender Vorlaufszeit des Antibionten aufgeimpfte Konidien von

Colletotrichum atramentarium nicht zur Entwicklung kommen und getötet werden. Hierdurch fanden bei mikrobiologisch einfachsten Verhältnissen die bisher in allen Fällen negativ verlaufenen Isolierungs- und Reisolierungsversuche aus natürlich belebten Böden ihre Bestätigung. Der biotische Faktorenkomplex wird als derjenige angesehen, der einen Bodensaprophytismus von *Colletotrichum atramentarium* ausschließt.

4. An Kulturen des *Colletotrichum atramentarium* auf Agarmedien konnte erkannt werden, daß Antibionten auf den Pilz nicht nur fungistatisch, sondern durch Erregung einer Lysis auch fungizid wirken.

5. Versuche zur Isolierung des Pilzes aus Kartoffelkraut, das über zwei Jahre mit und ohne Zusatz von Erde verkompostierte, verliefen durchgehend negativ.

6. Aus Sklerotien des Pilzes, die im Agarmedium in belebten Boden gebracht worden waren, konnte der Pilz nach acht Monaten nicht mehr reisoliert werden.

7. In Böden verschiedener biologischer Aktivität vergrabene sklerotienhaltige Stengelteile hatten nach fünf Monaten im Falle von Komposterde noch 75 % keimfähige Sklerotien. Bei entsprechend in Felderde vergrabenen Stengelteilen keimten 90 % aus. Nach acht Monaten waren die Sklerotien der vergrabenen Stengelstückchen in Felderde noch mit 68 % keimfähig. Unter sonst gleichen Bedingungen war die Keimfähigkeit in Komposterde auf 5,4 % zurückgegangen.

8. Freilandbeobachtungen ließen erkennen, daß der Pilz an im Freien auf dem Boden überwinterten infizierten Stengelteilen in fast allen Fällen seine Lebensfähigkeit bewahrt hatte.

9. Es wird nachgewiesen, daß der Wind von überwintertem toten Kartoffelkraut infektionsfähige „Keime" fortzutragen vermag.

10. Konidienfangversuche in Beständen von Kartoffelstauden bestätigten die Vermutung, daß Kartoffelstauden als Infektionsquelle dann in Frage kommen, wenn die Konidien abschnürenden Sklerotien (Acervuli) aus dem Gewebe abgestorbener Stengel nach außen durchgestoßen sind, und diese verweht werden können.

Für die Themenstellung und für ständige Unterstützung möchte ich Herrn Prof. Dr. H. WARTENBERG meinen besonderen Dank aussprechen.

Literaturverzeichnis

*ALEXOPOULOS, C. J., R. ARNETT and H. V. MCINTOSH (1938): Studies in antibiosis between bacteria and fungi. Ohio J. Sci., **32**, 221—235.

*— — and J. A. HERRICK (1942): Studies in antibiosis between bacteria and fungi. Inhibitory action of some actinomycetes on various species of fungi in culture. Bull. Torry Bot. Club, **69**, 257—261.

*Averna-Saccá, R. (1923): Contribuição para o estudo da biologia da Anthracnose da batatinha e principalmente de sua forma ascophora. Bol. de Agric. Sao-Paulo, Ser. 24, **78**, 272—282.

Bremer, H. (1954): Beobachtungen zur Wurzelfäule im Trockenklima. Z. Pfl.kr. u. Pfl. schutz **61**, 575—587.

*Brian, P. W. (1948): Production of antibiotics in relation to the ecology of soil-inhabiting microorganisms. Proceeding of the Society for General Microbiology. J. gen. Microbiol. **2**, 3, 17—32.

Cavadas, D. (1923): Notes sur la dartrose des pommes de terre et ses conséquences. Rev. de path. vég. et d'entom. agr., **10**, 67—75.

Défago, G., et R. Gasser (1942): La dartrose de la pomme de terre. Ber. Schweiz. Bot. Ges., **53 A**, 480—499.

*Dickson, B. T. (1925): Taxonomic studies of the organism causing black-dot disease of Potato. Phytopathology, **15**, 5, 300.

— — (1926): The „Black Dot" disease of potato. Phytopathology, **16**, 23—40.

Dölle, H. (1954): Über antibiotische Wirkungen von Actinomyceten des Bodens auf *Helminthosporium papaveris* Saw. Zbl. Bakter., II. Abt., **108**, 127—133.

*Ducomet, V. (1908): Une nouvelle maladie de la pomme de terre Dartrose. Ann. Ecol. Nationale Agric., **2**, 24—47.

Ettig, B. (1955): Über einen Antagonismus zwischen Bodenbakterien und *Colletotrichum atramentarium* (B. et Br.) Taub. Zbl. Bakter., II. Abt., **108**, 602—610.

Gäumann, E. (1950): Bodenbewohnende Algen als Wuchsstoffspender für bodenbewohnende pflanzenpathogene Pilze. Phytopath. Z., **17**, 218—228.

— —: Pflanzliche Infektionslehre. Birkhäuser Basel, 2. Aufl. 1951.

*Garrett, S. D.: Root disease fungi. Chronica Botanica, Waltham 1944.

Gemeinhardt, H. (1954): Aktinomyceten als Antibionten von *Colletotrichum atramentarium* (B. et Br.) Taub. Nachr.bl. Dtsch. Pflanzenschutzd. (Berlin) N. F., **8**, 226—229.

— — (1955): Zur Frage des Saprophytismus von *Colletotrichum atramentarium* (B. et Br.) Taub. Nachr.bl. Dtsch. Pflanzenschutzd. (Berlin) N. F., **9**, 128—133.

*Grossbard, E. (1948): Production of an antibiotic substance on Wheat straw and other organic materials and in the soil. Nature, Lond., clxi, 4094, pp. 614—615.

Grümmer, G. (1951): Beiträge zur Eigenschaftsanalyse der Anfälligkeit von *Papaver somniferum* gegen *Helminthosporium papaveris*. Züchter, **21**, 306—322.

Hochapfel, H. (1940): Die Wurzelphloemnekrose der Tomate. Zbl. Bakter., II. Abt., **102**, 262—269.

Horschak, R. (1954): Über die Verbreitung des *Colletotrichum atramentarium* (B. et Br.) Taub. Nachr.bl. Dtsch. Pflanzenschutzd. (Berlin) N. F., **8**, 135—136.

Husz, B. (1953): Über die *Colletotrichum*-Welkekrankheit der Kartoffel in Ungarn. Acta Agronomica, **3**, 57—70.

Jefferys, E. G. (1952): The stability of antibiotics in soils. J. gen. Microbiol., **7**, 295—312.

— —, P. W. Brian, H. G. Hemming and D. Lowe (1953): Antibiotic production by the microfungi of acid heath soils. J. gen. Microbiol., **9**, 314—341.

Köhler, H. (1950): Antibiotika und ihre Bedeutung in der Pflanzenpathologie. Nachr.bl. Dtsch. Pflanzenschutzd. (Berlin) N. F., **4**, 161—164.

*Krassilnikow, N. A. (1953): Mikroben-Antagonisten und antibiotische Stoffe in der Pflanzenzüchtung. Izv.Akad. Nauk. SSSR, Ser. Biol. 1953, Nr. **2**, 49—66 (russisch).

Lihnell, D. (1935): Zur Frage der chemischen Sterilisierung von Humus für Pilzkulturen. Arch. Mikrobiol., **16**, 326—333.

Müller, R. (1953): Studien über die Sektorenbildung bei *Penicillium*. Flora, 140, 209—252.

Niethammer, A. (1937): Die Mikroskopischen Bodenpilze. Dr. W. Junk, s'-Gravenhage, 160—161.

Olgyay, M. (1951): Fertözési vizsgálatok *Colletotrichum atramentarium*-mal burgonyán. Agrártudomanyi Egyetem Kert-és Szölögazdaságtudományi Kar Évkönye, **15**, 195 bis 204.

Pape, H.: Melanconiales. In Handb. der Pflanzenkrankh., Sorauer, **III**, 543—545, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1932.

Rehm, H. J. (1952): Untersuchungen zur Ökologie, Physiologie und antagonistischen Wirksamkeit von Bodenstreptomyceten. Wiss. Z. Univ. Greifswald, Jahrg. **III**, Math.-nat. Reihe, 5—15.

Rippel-Baldes, A.: Grundriß der Mikrobiologie. Springer-Verlag, 3. Auflage, 1955, S. 358.

Schmiedeknecht, M. (1956): Untersuchungen zum Parasitismus von *Colletotrichum atramentarium* (B. et Br.) Taub. bei Kartoffeln (*Solanum tuberosum* L.). Phytopath. Z., 26, 1—30.

Waksman, S. A. (1937): Associative and antagonistic effects of microorganisms (I, II, III). Soil Science, **43**, 51—77.

— — (1941): Antagonistic relations of microorganisms. Bact. Rev., **5**, 221—291.

— — (1942): Distribution of antagonistic actinomycetes in nature. Soil Science, **54**, 281 bis 296.

— — (1947): What is an antibiotic or an antibiotic substance? Mykologia, **39**, 565—569.

— — (1950): The Actinomycetes. Chronica Botanica, Waltham, Mass.

Wallhäuser, K. H. 1950: Die antibiotischen Beziehungen einer natürlichen Mikroflora. Arch. Mikrobiol., 16, 201—236.

Wenzl, H. (1950): Untersuchungen über die *Colletotrichum*-Welkekrankheit der Kartoffel. — I. Schadensbedeutung, Symptome und Krankheitsverlauf. Pflanzenschutzber., **5**, 305—344.

Winter, G. (1949): Untersuchungen über die Ökologie und den Massenwechsel bodenbewohnender mikroskopischer Pilze. Arch. Mikrobiol., **15**, 42—71.

— — (1950): Untersuchungen über die Ökologie und den Massenwechsel bodenbewohnender mikroskopischer Pilze. II. Mitt. Arch. Mikrobiol., **16**, 136—162.

Die mit * versehenen Arbeiten lagen nur im Referat vor.

Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Über den Einfluß von Pyridin und Pyridin-Derivaten auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra nitida* und *Rhoeo discolor*[1])

Von

Elisabeth Bachmann

Mit 8 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — Methoden. — Experimentelle Untersuchungen. § 1. Pyridin und seine Methyl-Derivate; § 2. Pyridin-carbonsäuren; § 3. Nicotinsäure, Nicotinsäureamid und Coramin; § 4. Pyridin-4-essigsäure-amid und Pyridin-4-essigsäure-aethylester. — Besprechung der Ergebnisse. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Im Zusammenhang mit den Untersuchungen über den Einfluß von Fusarinsäure (5 n-Butyl-pyridin-2-carbonsäure), einem Welketoxin von *Fusarium lycopersici* Sacc., auf die Wasserpermeabilität von pflanzlichen Protoplasten (Bachmann, 1956) war es interessant, auch andere Pyridin-Derivate in gleicher Weise zu untersuchen. Nach der von Gäumann und Jaag (1946, 1947) aufgestellten Theorie über das Zustandekommen der irreversiblen toxigenen Welke ist ja eine ihrer primären Ursachen in einer Schädigung der Permeabilität der Plasmagrenzschichten zu suchen.

Die verschiedenen Pyridin-Derivate, über die hier berichtet werden soll, wurden freundlicherweise von Herrn Prof. R. Meier, Ciba Basel, zur Verfügung gestellt.

Methoden

Eine genaue Beschreibung der Versuchsanordnung findet sich bei Bachmann (1956). Als Versuchsobjekte wurden wiederum *Spirogyra nitida*

[1]) Die vorliegende Arbeit wurde durch den schweizerischen Nationalfonds zur Förderung wissenschaftlicher Forschung unterstützt; wir möchten seinen Behörden auch hier unseren Dank wiederholen.

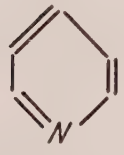
(Dillwyn) Link und *Rhoeo discolor* (L'Hér.) Hance gewählt. In allen Abbildungen bedeuten Q-Werte über 1 eine Erhöhung, Q-Werte unter 1 dagegen eine Erniedrigung der Wasserpermeabilität.

Experimentelle Untersuchungen

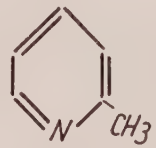
Die Versuchsergebnisse der geprüften Substanzen sollen nicht einzeln besprochen werden, sondern von Anfang an in Reihen chemisch verwandter Stoffe gestellt werden. Ausgangspunkt für die einzelnen Reihen ist immer Pyridin als der allen Substanzen gemeinsame Kern des Moleküls.

§ 1. Pyridin und seine Methyl-Derivate

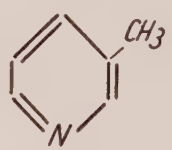
Geprüft wurden: Pyridin, α-Picolin, β-Picolin, γ-Picolin, 2, 4-Lutidin und 2, 4, 6-Collidin.



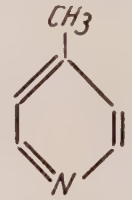
Pyridin



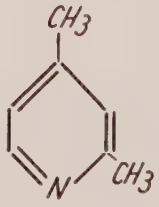
α-Picolin



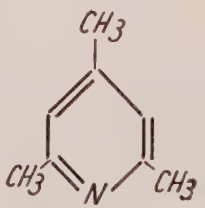
β-Picolin



γ-Picolin



2,4-Lutidin



2,4,6-Collidin

Vergleichen wir den Einfluß von Gliedern dieser Stoffgruppe auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten, so ergibt sich folgendes:

1. Pyridin: Pyridin (Abb. 1) vermag die Wasserpermeabilität bei beiden Objekten im Konzentrationsbereich $1 \cdot 10^{-8}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter stark zu erhöhen. Die Steigerung der Wasserpermeabilität erreicht bei *Spirogyra* bei $5 \cdot 10^{-7}$ Mol/Liter mit 50 %, bei *Rhoeo* bei $1 \cdot 10^{-7}$ Mol/Liter mit 80 % ihr Maximum. Beiderseits fallen die beiden Kurven steil ab. Konzentrationen zwischen $1 \cdot 10^{-5}$ und $1 \cdot 10^{-2}$ Mol/Liter vermögen die Wasserpermeabilität der beiden Objekte gegenüber der Kontrolle nicht zu verändern.

Eine Veränderung der Protoplasten und bei *Spirogyra* auch der Chloroplasten kann nicht festgestellt werden.

2. Methyl-Derivate von Pyridin: Methyl-Gruppen am Pyridinring haben keinen Einfluß auf die Wasserpermeabilität der beiden Testobjekte. Die durch den Pyridinring allein verursachte Störung der Wasserpermeabilität wird durch sie nicht weiter verändert.

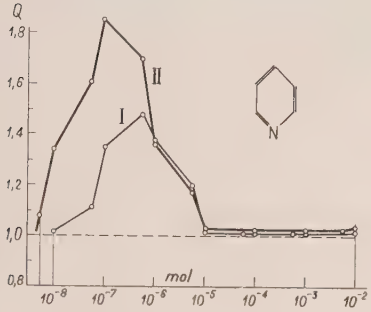


Abb. 1. Der Einfluß von Pyridin auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* (I) und *Rhoeo* (II). Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

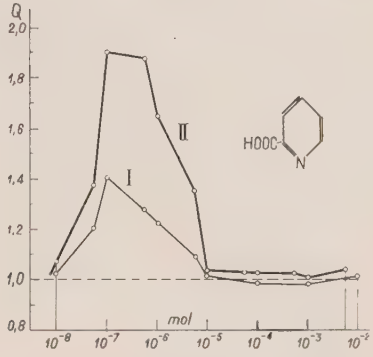
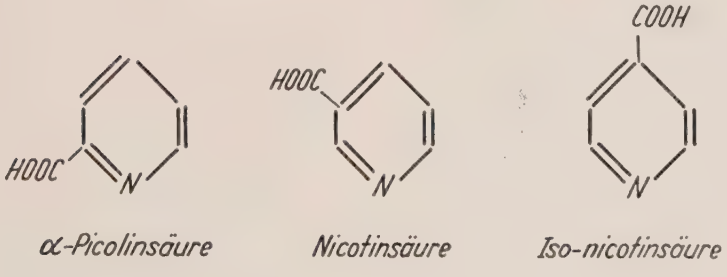
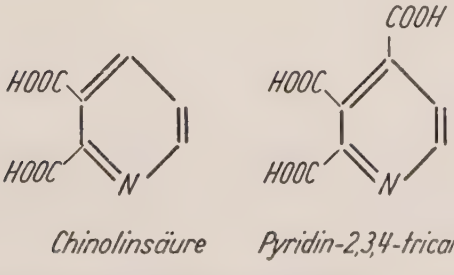


Abb. 2. Der Einfluß von α-Picolinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* (I) und *Rhoeo* (II). Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

§ 2. Pyridin-carbonsäuren





Geprüft wurden: α-Picolinsäure, Nicotinsäure, Iso-nicotinsäure, Chinolinsäure und Pyridin-2, 3, 4-tricarbonsäure.

1. α-Picolinsäure, Nicotinsäure und Iso-nicotinsäure: Auch diese drei Pyridin-mono-carbonsäuren verursachen bei beiden Objekten eine Erhöhung der Wasserpermeabilität im Konzentrationsbereich $1 \cdot 10^{-8}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter (Abb. 2 bis 4). Höhere Toxinkonzentrationen verändern die Wasserpermeabilität gegenüber der Kontrolle nicht. Die Säuregruppe als solche, sowie ihre Stellung am Pyridinring scheint auf die Wasserpermeabilität der beiden Objekte keinen Einfluß zu haben. Einzig die durch Iso-nicotinsäure bei *Rhoeo*-Protoplasten ausgelöste Permeabilitätsstörung macht eine Ausnahme (vgl. Abb. 4, II). Hier ist die durch geringe Konzentrationen verursachte Erhöhung der Wasserpermeabilität noch viel stärker ausgeprägt. Sie erreicht ihr Maximum von 260 % bei $1 \cdot 10^{-7}$ Mol/Liter. Konzentrationen über $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter lösen eine Herabsetzung der Wasserpermeabilität aus, die bei $5 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter 50 % erreicht.

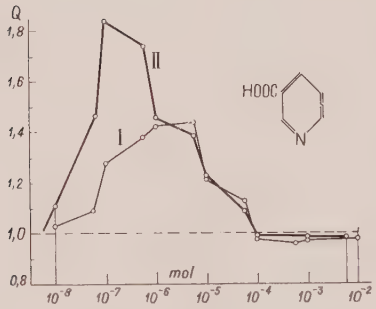


Abb. 3. Der Einfluß von Nicotinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* (I) und *Rhoeo* (II). Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

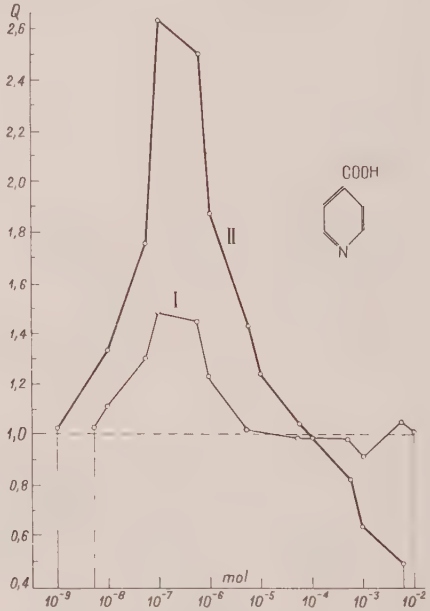


Abb. 4. Der Einfluß von Iso-nicotinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* (I) und *Rhoeo* (II). Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

2. Chinolinsäure und Pyridin-2, 3, 4-tricarbonsäure: Auch diese Substanzen verursachen im Konzentrationsbereich $1 \cdot 10^{-8}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter bei beiden Objekten eine Erhöhung der Wasserpermeabilität (Abb. 5 und 6). Höhere Konzentrationen hingegen wirken verschieden auf die Plasmadurchlässigkeit der Protoplasten der beiden Objekte. Unter dem Einfluß von Chinolinsäurelösungen über $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter steigt die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* erneut an und erreicht bei $5 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter 40 %. Wird die Toxinkonzentration noch weiter erhöht, so koagulieren die Protoplasten. Dasselbe gilt

für Pyridin-2, 3, 4-tricarbonsäure. Hier genügt jedoch schon eine $5 \cdot 10^{-4}$ molare Lösung, um die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* auf 205 % der Kontrolle zu erhöhen. Höhere Toxinkonzentrationen bringen die Protoplasten zum Absterben.

Rhoeo wird durch die beiden Substanzen nicht gleich beeinflußt. In Konzentrationen über $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter hemmt Chinolinsäure die Wasserpermeabilität. Die Herabsetzung der Wasserpermeabilität erreicht bei $5 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter 50 % der Kontrolle. Pyridin-2, 3, 4-tricarbonsäure hingegen vermag die Wasserpermeabilität in Konzentrationen über $5 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter gegenüber der Kontrolle nicht zu verändern.

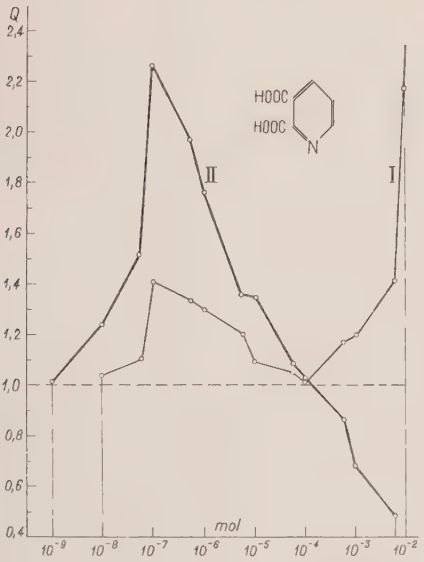


Abb. 5. Der Einfluß von Chinolinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* (I) und *Rhoeo* (II). Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

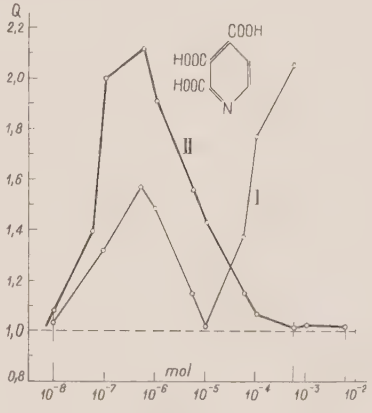
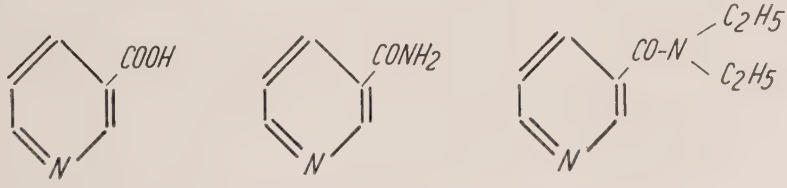


Abb. 6. Der Einfluß von Pyridin-2,3,4-tricarbonsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* (I) und *Rhoeo* (II). Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

§ 3. Nicotinsäure, Nicotinsäure-amid und Coramin



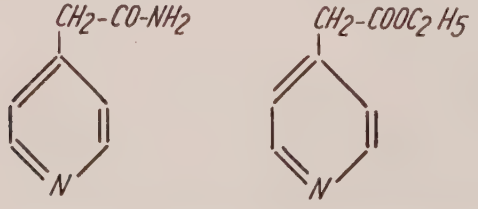
Nicotinsäure *Nicotinsäure-amid* *Coramin*

Die dritte Versuchsreihe umfaßt Nicotinsäure, Nicotinsäure-amid und Coramin, das Diaethylamid der Nicotinsäure.

Die Nicotinsäure ist in § 2 besprochen worden (vgl. Abb. 3). Die Säuregruppe in β-Stellung vermag die schon durch den Pyridinring ausgelöste Permeabilitätsstörung nicht weiter zu verändern. Dasselbe gilt für das Nicotinsäure-amid (Abb. 7). Auch hier tritt bei beiden Objekten im Konzentrationsbereich $1 \cdot 10^{-9}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter eine Erhöhung der Wasserpermeabilität auf, die bei $1 \cdot 10^{-7}$ Mol/Liter ihr Maximum mit 60 % für *Spirogyra* und 265 % für *Rhoeo* erreicht. Die durch Nicotinsäure-amid ausgelöste Erhöhung der Wasserpermeabilität ist also bedeutend größer als die durch Nicotinsäure verursachte.

Coramin, das Diaethylamid der Nicotinsäure, verursacht bei beiden Objekten im Konzentrationsbereich $1 \cdot 10^{-8}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter die allen Pyridin-Derivaten gemeinsame Erhöhung der Wasserpermeabilität (Abb. 8). Das Ausmaß der Permeabilitätsstörung entspricht wieder demjenigen von Pyridin. Im Bereiche höherer Konzentrationen wirkt Coramin verschieden auf die beiden Objekte. Bei *Spirogyra* tritt eine Herabsetzung der Wasserpermeabilität auf, die bei $1 \cdot 10^{-2}$ Mol/Liter 40 % erreicht. Bei *Rhoeo* hingegen kommt es zu einer Erhöhung der Wasserpermeabilität, die bei $1 \cdot 10^{-2}$ Mol/Liter 80 % der Kontrolle ausmacht. Diese erneute Störung der Wasserpermeabilität ist bei beiden Objekten mit einer Veränderung der Protoplasten und bei *Spirogyra* auch der Chloroplasten verbunden. Die Plasmolyse der *Rhoeo*-Protoplasten verläuft nicht mehr konvex. Zu Beginn der Deplasmolyse hingegen runden sich die Protoplasten sofort ab. Bei *Spirogyra* ist vor allem eine Veränderung der Chloroplasten wahrzunehmen. Unter dem Einfluß steigender Coramin-Konzentrationen ballen sich die Chloroplasten immer mehr zusammen, wandern während der Deplasmolyse erst in zwei Klumpen an die beiden Zellenden und vermögen sich dann gar nicht mehr auszudehnen. Zudem verlieren sie ihre grüne Farbe und werden leicht gelb bis braun.

§ 4. Pyridin-4-essigsäure-amid und Pyridin-4-essigsäure-aethylester



Pyridin-4-essigsäure-amid *Pyridin-4-essigsäure-aethylester*

Die vierte Versuchsreihe umfaßt Pyridin-4-essigsäure-amid und Pyridin-4-essigsäure-aethylester, der als Hydrochlorid vorliegt.

Wie bei allen anderen Pyridin-Derivaten, so tritt auch unter dem Einfluß dieser zwei Substanzen im Konzentrationsbereich $1 \cdot 10^{-8}$ bis $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter eine Erhöhung der Wasserpermeabilität auf. Höhere Toxinkonzentrationen vermögen die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* und *Rhoeo* gegenüber der Kontrolle nicht zu verändern.

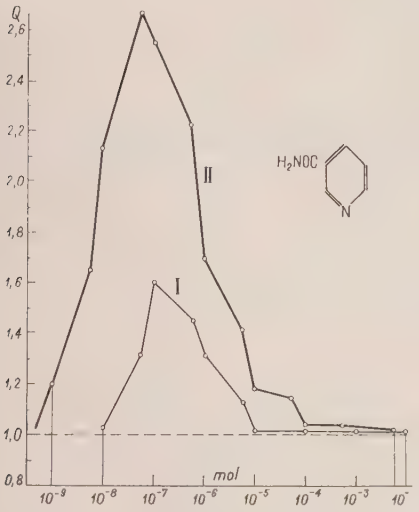


Abb. 7. Der Einfluß von Nicotinsäureamid auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* (I) und *Rhoeo* (II). Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

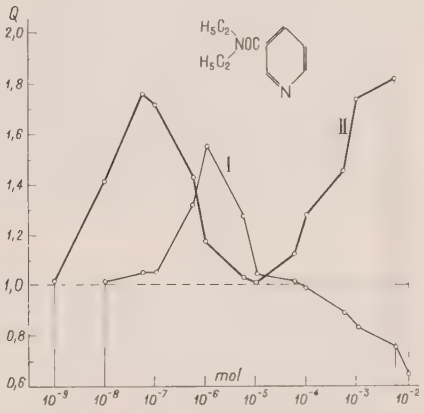


Abb. 8. Der Einfluß von Coramin auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* (I) und *Rhoeo* (II) Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

Besprechung der Ergebnisse

Alle bisher geprüften Pyridin-Derivate vermögen in kleinen Konzentrationen die Wasserpermeabilität der beiden Objekte, *Spirogyra* und *Rhoeo*, zu erhöhen. Pyridin, der allen Stoffen gemeinsame Kern des Moleküls, ist für diese Erscheinung verantwortlich. Die Erhöhung der Wasserpermeabilität deckt sich mit der von Hetero-auxin (Guttenberg und Beythien, 1951) verursachten. Hetero-auxin vermag in den gleichen Konzentrationen, wie das für Pyridin-Derivate der Fall ist, die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* und *Spirogyra* zu erhöhen. Es ist dies auch derselbe Konzentrationsbereich, in dem Hetero-auxin das Wachstum der *Avena*-Koleoptile anregt (Söding, 1952). Söding stellt unter anderen auch die Nicotinsäure und das Nicotinsäure-amid in die Reihe der Plasmawirkstoffe. Auf Grund der hier beschriebenen Versuche dürfen vielleicht nicht nur Nicotinsäure und das Nicotinsäure-amid als Plasmawirkstoffe bezeichnet werden, sondern Pyridin-Derivate im

allgemeinen. Die Einbeziehung der pharmakologischen Resultate würde vielleicht noch andere Aspekte der Wirkungsweise von Pyridin-Derivaten eröffnen.

Literaturverzeichnis

Bachmann, E., 1956: Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von pflanzlichen Protoplasten. Phytopath. Z. **27**, 255—288.

Gäumann, E. und Jaag, O., 1946: Über das Problem der Welkekrankheiten bei Pflanzen. Experientia **2**, 215—220.

— — und — —, 1947: Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens I—III. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **57**, 3—34, 132—148, 227—241.

Guttenberg, H. v. und Beythien, H., 1951: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Planta **40**, 36—39.

Söding, H.: 1952: Die Wuchsstofflehre. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1952.

Istituto di Patologia Vegetale e Microbiologia Agraria e tecnica dell'Università di Pisa

Direttore: O. Verona

Sostanze ad azione flocculante presenti in alcuni semi

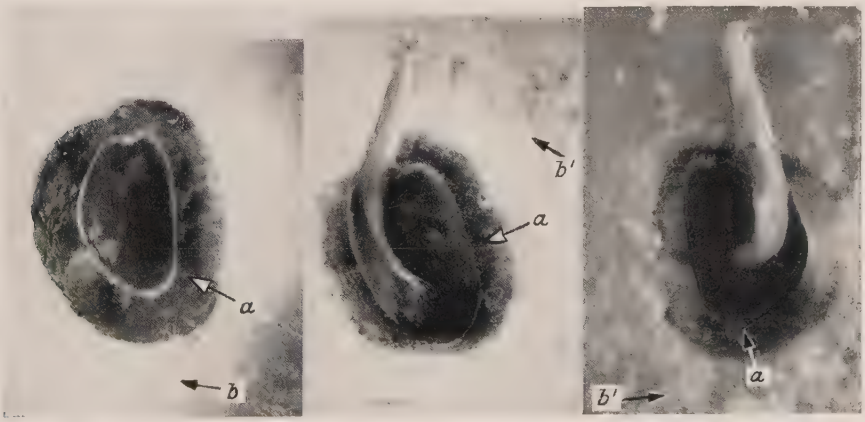
di

Onorato Verona

Con 1 figura

Esperienze di Quartaroli (cfr. "Annali della Facoltà di Agraria" dell'Università di Pisa, 1951) hanno messo in evidenza come, in semi di alcune piante, siano presenti in superficie sostanze di natura mucilagginosa capaci di esercitare, se portate in soluzione, azione flocculante sul complesso argilloso del terreno. Specie in presenza di piccole quantità di allume, funzionante da attivatore, il fenomeno, operando con semi di *Lepidium sativum* L. oppure con semi di lino, è di evidenza eclatante.

Alla luce di questi risultati era interessante vedere se, analoghi fenomeni di flocculazione, venivano a stabilirsi nei riguardi di sospensioni microbiche.



Semi di *Lepidium sativum* L. in germinazione. a) strato di sostanze mucilagginose che circonda il seme, b) sospensione microbica che dopo poco tempo agglutina (b')

Operando nel modo che verremo precisando diremo subito che, i risultati raccolti, sono stati pienamente positivi.

Più esattamente, le sostanze mucilagginose che si trovano alla superficie di semi di *Lepidium* e di semi di lino possono, anche in piccolissima quantità, determinare chiarificazione di una sospensione microbica sia pure in maniera più o meno rapida e più o meno intensa in rapporto ad alcune circostanze.

Segue il metodo con il quale abbiamo proceduto.

I) Estrazione delle sostanze mucilagginose e preparazione delle soluzioni

E' a premettersi che i semi di *Lepidium* sono assai ricchi, come è noto, di sostanze mucilagginose formate dalla condensazione di molecole di galattosio, galattopiranosio, ramnopiranosio, arabofuranosio. Trattando gr. 1 di semi con ml. 500 di acqua distillata, dopo avere agitato per 15' passa in soluzione una quantità di queste sostanze pari a circa l'1 % del peso dei semi. Ciò significa che in ml. 1 di soluzione si trovano presenti μg 20 di tali sostanze.

Per le nostre esperienze abbiamo utilizzato soluzioni ottenute agitando per 15 o più minuti gr 1 di semi in ml 500 di acqua od anche gr 1 di semi in ml 100 di acqua. La soluzione ottenuta in questo ultimo caso veniva a contenere una quantità maggiore di sostanze: in ml 1 se ne venivano a trovare, cioè, μg 100. La prima soluzione serviva a darci indice della possibile grande sensibilità del fenomeno; la seconda, a meglio evidenziarlo.

II) Preparazione delle sospensioni microbiche

Le prove sono state eseguite scegliendo pochi microorganismi rappresentativi ed esattamente: *Pseudomonas fluorescens* Migula, germe comune nel terreno e nelle acque, come batterio asporulante; *Bacillus subtilis* Cohn, schizomicete sporigeno cosmopolita onde saggiare l'azione flocculante delle nostre soluzioni sulle spore; *Saccharomyces cerevisiae* Hansen al fine di vedere l'influenza, sul processo flocculante, delle dimensioni delle cellule in questo caso assai più grandi di quelle dei batteri. Una prova, finalmente, si è eseguita su di una coltura non pura raccogliendo le cellule sviluppate in brodo nutritivo inoculato con terra di campo.

Pseudomonas fluorescens e *Bacillus subtilis* furono fatti sviluppare in brodo nutritivo; *Saccharomyces cerevisiae* in liquido di Williams. Dopo due giorni di coltura le cellule dei microorganismi furono separate dai liquidi colturali mediante centrifugazione. Dopo averle riportate in sospensione in acqua, eventualmente si filtrava per carta sterile e ciò al fine di separare eventuali agglomerati cellulari. Si tornava a centrifugare. Si lavava ancora una volta e finalmente si tornava a sospendere in acqua fino ad ottenere una sospensione giustamente opalescente.

III) Modo di esecuzione delle prove

Si versano, in piccoli tubi da sierologia, ml 2 della sospensione microbica; quindi si versano gocce III di una soluzione concentrata di allume e

quindi ancora quantità prestabilite della soluzione proveniente dai semi. Circa l'aggiunta di questa soluzione abbiamo usato, per ml 2 di sospensione microbica, ml 0.5—0.25—0.1. In quest'ultimo caso (ml 0.1) utilizzando la soluzione ottenuta agitando gr 1 di semi in ml 500 di acqua le sostanze flocculanti venivano a trovarsi in ragione di μg 1 per ml di sospensione microbica.

Nei controlli[1]) sono aggiunte pari quantità di acqua distillata. Si agita e si lascia in riposo.

I risultati, come è stato premesso, sono stati positivi salvo la loro maggiore o minore evidenza conforme il verificarsi di circostanze che dopo preciseremo.

Tali risultati si manifestato con una sedimentazione più rapida delle cellule, là dove è presente sostanza attiva, e quindi con un più pronto formarsi del deposito. Intervengono anche azioni agglutinanti; giacchè mentre all'agitazione le cellule tornano a dare, nei tubi di controllo, una sospensione omogeneamente torba, negli altri tubi si osserva che il sedimento è costituito da ammassi fioccosi. Anzi, ripetendo agitazione e riposo ad intervalli di tempo, il sedimento appare sempre più fioccoso con il succedersi delle agitazioni. Al microscopio, le cellule dei tubi ove è presente la sostanza attiva si mostrano ammassate.

Abbiamo detto che l'esperienza viene condotta aggiungendo preliminarmente ai tubi contenenti le sospensioni microbiche tracce di allume. Tale aggiunta non è rigorosamente indispensabile; ma la presenza di allume a t t i v a in maniera del tutto evidente il fenomeno della flocculazione. In fondo, il processo flocculante, si stabilisce anche in assenza del composto attivante: ma allora è più lento e meno evidente; mentre di contro la presenza del solo allume non è sufficiente — nelle quantità usate — a produrre flocculazione sensibile[2]).

Per quanto dicono le nostre esperienze l'osservata azione flocculante non può altrimenti essere attribuita che alle sostanze mucilagginose presenti alla superficie del seme. Ma in linea di ipotesi non è del tutto da escludersi che il determinismo del fenomeno sia legato a sostanze diverse ed ignote e che le mucilaggini, pertanto, in funzione della loro qualità di colloidi altamente idrofili, abbiano solo azione indiretta, cioè stabilizzatrice e potenziatrice del "quid" flocculante.

La maggiore o minore evidenza del fenomeno è in rapporto, si è detto, allo stabilirsi di alcune circostanze.

Esse dovranno essere meglio precisate; ma intanto appare palese, specie nella velocità di flocculazione, l'esistenza di un rapporto tra sostanze ad azione flocculante e numero di cellule presenti nella sospensione microbica; altresì palese è l'influenza delle dimensioni delle cellule apparendo il fenomeno più evidente quanto più le cellule sono grandi. Finalmente è ammissibile anche un'azione del tempo giacchè, in alcuni casi, tornando ad omogeneizzare

[1]) Tra i controlli avevamo, naturalmente, anche tubi privi di qualsiasi aggiunta oppure privi dell'aggiunta di allume.

[2]) L'allume ha azione flocculante, invece, sulle sostanze mucilagginose.

dopo 24' ore di riposo le sospensioni microbiche la successiva sedimentazione sembra avvenire in maniera più rapida.

E' noto il significato fisiologico che viene attribuito a queste sostanze mucilagginose che accompagnano alcuni semi.

Al di fuori di questo significato fisiologico vien fatto di pensare che esse abbiano un'azione protettiva durante la fase di pre-germinazione e di germinazione. In realtà, poco dopo il seme è messo in contatto con l'acqua e quindi in condizioni di germinare, esso subito si riveste di un denso strato mucilagginoso capace di permanere un certo tempo attorno alla superficie dello stesso seme e tale da precludere l'accesso ai microorganismi. Mentre da un lato si costituisce questa specie di barriera meccanica, dall'altra, quanto passa in soluzione, limita in un certo senso, per il determinarsi di azioni flocculanti, l'attività microbica. Tale seconda azione è duplice: diretta, conforme quanto qui si è communicato; indiretta per la contemporanea flocculazione del complesso argilloso.

Ove il seme non sia già infetto si vengono quindi a stabilire circostanze naturali atte ad opporsi al determinismo della contaminazione. Se infetto, la presenza di sostanze agglutinanti può, verosimilmente, rendere meno severa la capacità infettante dei germi patogeni.

Riassunto

Nei semi di molte piante sono contenute, alla superficie, sostanze di natura mucilagginosa che provocano, anche in piccolissima quantità, flocculazione del complesso argilloso del terreno.

L'Autore, sperimentando con semi di *Lepidium sativum* L. e semi di lino, dimostra che tali sostanze mucilagginose sono capaci di provocare fenomeni di flocculazione anche nelle colture microbiche.

Questa circostanza, unita al formarsi, intorno al seme in germinazione, di uno strato più o meno spesso di tali sostanze mucilagginose, consente di considerare il fenomeno come un mezzo di cui dispone il seme onde opporsi ad eventuale contaminazione da parte di germi patogeni.

Zusammenfassung

Die Samen mancher Pflanzen enthalten oberflächlich schleimige Substanzen, welche auch in geringen Mengen Ausflockungen der Tonkomplexe im Boden hervorrufen können. Derartige Substanzen aus den Samen von *Lepidium sativum* L. und Lein können auch Agglutinationen in Bakterien- und Hefenkulturen hervorrufen. Es liegt daher die Vermutung nahe, daß diese Substanzen, welche die Samen bei der Keimung in Form einer Hülle umgeben, unter Umständen Infektionen mit pathogenen Keimen vom Samenkorn abhalten können.

Istituto di Patologia Vegetale della Facoltà di Agraria della Università Cattolica del S. Cuore-Piacenza

Estrazione e purificazione della *Cochliobolina*, una tossina prodotta da *Helminthosporium oryzae*

di

MARIO ORSENIGO

Con 3 grafici

In una pubblicazione precedente (ORSENIGO, 1955) riportavo le osservazioni da me compiute sulla produzione in coltura di tossine da parte di *Helminthosporium oryzae*. In tale lavoro, che ritengo opportuno riassumere brevemente, dimostravo, attraverso numerose prove spermientali, che sia l'inoculazione delle piantine di riso con micelio del fungo, sia la somministrazione di diversi filtrati colturali e di autolisati del fungo, riducevano la percentuale delle cariossidi germinate e l'altezza delle piantine. Osservavo inoltre che *H. oryzae* determinava diverse altre alterazioni, come necrosi, riduzione dello sviluppo vegetativo e dell'apparato radicale, malformazioni varie, per cui le piante apparivano piccole, accartocciate, contorte, con profonde necrosi, ginocchiate ed a uncino, sia che l'azione del fungo si esplicasse attraverso inoculazioni di micelio nelle piantine, sia attraverso somministrazione alle stesse di autolisati e di liquidi colturali del fungo. Queste manifestazioni avvenivano a qualunque temperatura, ma molto più intensamente a 16—18 ° C., temperatura che del resto coincide con quella riportata dalla letteratura (BALDACCI, 1948; CRALLEY e TULLIS, 1937) come ottimale per la moria dei germinelli dovuta a *Helminthosporium oryzae*.

Potei dimostrare in seguito che gli estratti grezzi, ottenuti estraendo con cloroformio i liquidi colturali del fungo, contenevano tossine che sembrarono responsabili dei fenomeni sopra ricordati. Tali estratti, infatti, provocavano una notevole riduzione della germinabilità delle cariossidi, e somministrati a piantine di riso, determinavano un colore verde più scuro delle foglie, che poi si accartocciavano leggermente, presentavano striature scure ed incominciavano ad avvizzire all'apice. Le piantine divenivano di colore sempre più scuro e, se le concentrazioni dell'estratto erano forti, presentavano anche necrosi sul culmo. Col passar del tempo le foglie finivano coll'avvizzire e le piantine morivano. Le alterazioni apparivano irreversibili.

Nello stesso lavoro rilevavo sia le condizioni colturali ottimali per la produzione di tossine e per l'accrescimento del fungo, osservando un certo antagonismo tra i due fenomeni, sia che i diversi ceppi del fungo producevano diverse quantità di tossine, la maggiore produzione essendo raggiunta in condizioni colturali non identiche. Riportavo infine i risultati delle prime prove di estrazione delle tossine dai liquidi colturali. Notavo che le tossine erano contenute nelle fasi organiche dell'estrazione del liquido colturale con solventi organici, come benzolo, cloroformio ed etile acetato. Le fasi organiche si presentavano in genere limpide ed incolore, ed i loro estratti secchi di colore giallo bruno e di odore fortamente aromatico. Tutte le fasi acquose invece non presentavano la minima quantità di tossina. Inoltre, una prova di separazione mediante cromatografia su carta permise di osservare che negli estratti grezzi vi erano almeno due sostanze, una delle quali non sembrava attiva.

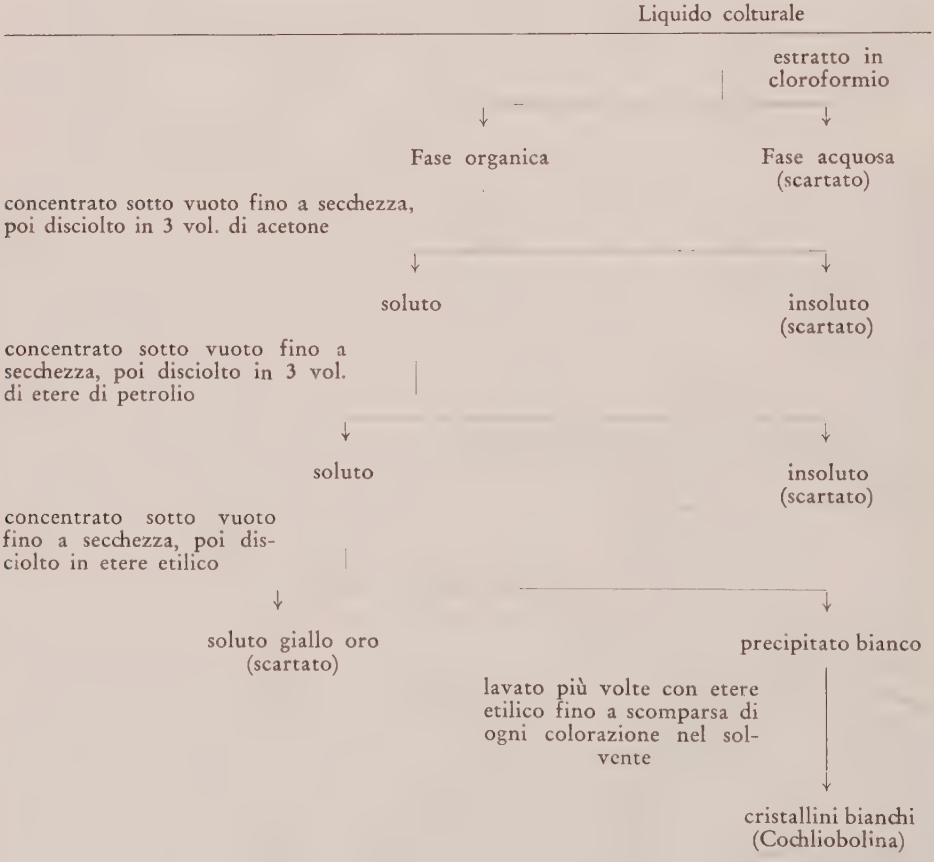


Grafico 1

Schema di estrazione della Cochliobolina dai liquidi colturali di *Helminthosporium oryzae*

Estrazione e purificazione della tossina

Sulla base di tali reperti ho continuato le ricerche per ottenere la separazione e la purificazione della tossina, o delle tossine, contenuta negli estratti grezzi. A questo scopo, il ceppo 3—83 di *Helminthosporium oryzae* veniva coltivato in matracci da 500 cc., contenenti 60 cc. ciascuno di un liquido colturale della seguente composizione: levulosio, gr. 10, peptone Erba, gr. 0,5; KH_2PO_4, gr. 1; $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$, gr. 0,5; $MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$ ed $Fe(NO_3)_3 \cdot 9\,H_2O$ in tracce, acqua distillata 1000 cc. Il pH del mezzo veniva portato sotto 5,5 e le colture mantenute a 24 ° C. per 12 giorni. Al termine di questo periodo il fungo si era sviluppato soprattutto in profondità, formando un micelio di colore azzurro molto chiaro.

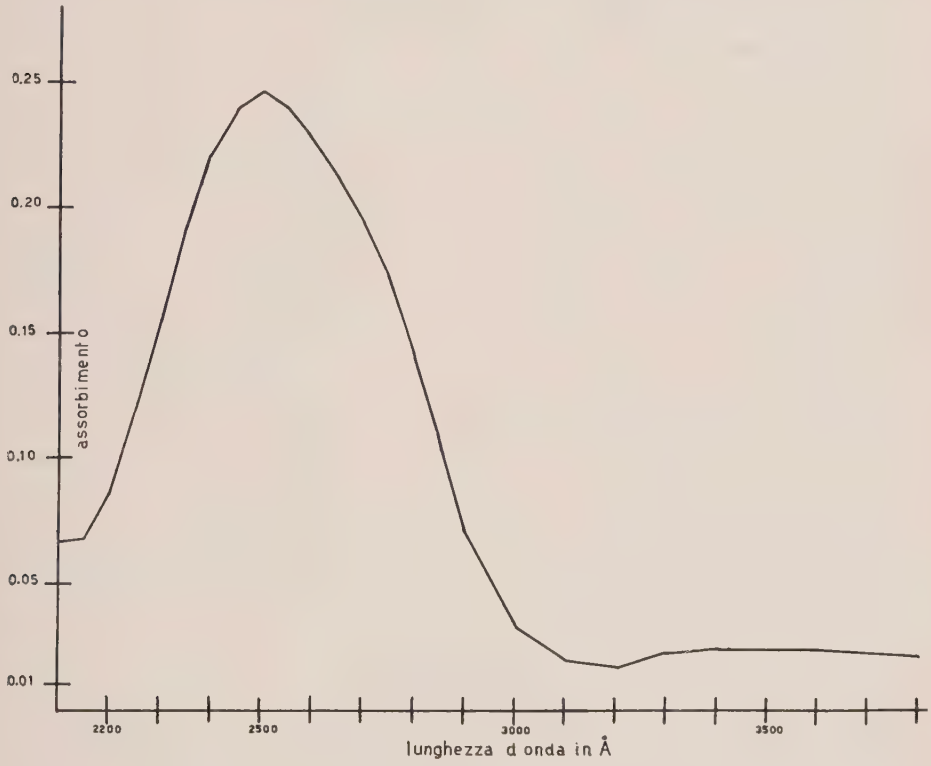


Grafico 2
Spettro di assorbimento della Cochliobolina a 15 p.p.m.

I liquidi colturali venivano quindi filtrati su carta, mescolati con egual volume di cloroformio, e lungamente agitati affinché si omogeneizzassero quanto più possibile. Successivamente le miscele venivano lasciate riposare per 12 ore a temperatura ambiente, affinché la fase organica si separasse da quella acquosa. La fase organica veniva poi estratta sotto vuoto fino a quasi completa secchezza. L'estratto bruno così ottenuto veniva disciolto in tre

volumi di acetone, e si separavano un liquido bruno scuro, limpido, ed una porzione insoluta, di aspetto butirroso e di colore giallastro chiaro. Il soluto in acetone veniva concentrato sotto vuoto, poi disciolto in tre volumi di etere di petrolio (p. e. 40 °—70 °C.), veniva quindi separato dalla porzione solida così ottenuta e di nuovo veniva concentrato sotto vuoto. Successivamente si scioglieva questo estratto semi-purificato in etere etilico anidro, e si ottenevano così un liquido giallo oro ed un precipitato biancastro, cristallino. Il precipitato cristallino perdeva, con successivi lavaggi in etere etilico anidro, ogni traccia di colorazione, data dai residui della soluzione madre, rimanendo sotto l'aspetto di una polvere cristallina bianco-candida (grafico 1).

La sostanza così estratta e purificata ha un punto di fusione di 180—182 ° C. Il suo potere rotatorio a 20 ° C. in acetone é $[\alpha]^{0}_{20} = + 326{,}8$. Esso é pochissimo solubile in acqua (max. 300 p. p. m.), in alcole etilico, butilico, propilico, metilico ed in etere etilico. E' molto solubile in cloroformio ed acetone, meno in etere di petrolio. La soluzione in acqua ha un massimo di assorbimento alla lunghezza d'onda di 2500 Å (grafico 2) a bassissima concentrazione; il limite di osservazione é raggiunto già alla concentrazione di circa 80 p. p. m. (grafico 3) con lo spettrofotometro Unicam. La composizione chimica non é nota. Alla tossina, ottenuta così allo stato puro, ho dato il nome di C o c h l i o b o l i n a, da *Cochliobolus*, nome generico della fase sessuata del fungo.

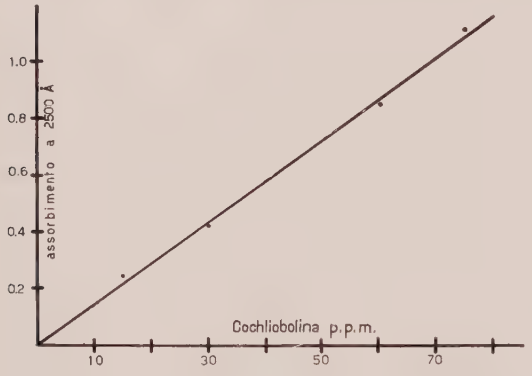


Grafico 3
Assorbimento di varie concentrazioni di Chochliobolina a 2500 Å

Saggi biologici

Per controllare se la sostanza così cristallizzata potesse essere identificata con una tossina prodotta da *Helminthosporium oryzae*, e per avere un primo orientamento sulla sua attività, sono stati compiuti alcuni saggi biologici che hanno preso in esame 1) l'effetto della sostanza sull'accrescimento dei coleoptili di riso e delle radichette, 2) l'intensità delle alterazioni plasmatiche prodotte, misurata come intensità di fuoriuscita degli antociani da cellule di picciolo di *Beta vulgaris* var. *hortensis*, e 3) come effetto sulla distensione di segmenti di coleoptili di *Avena*.

1) 100 cariossidi di riso Americano 1600 furono poste a germinare in capsule Petri di 10 cm. di diametro, ed a ciascuna piastra furono aggiunti 10 cc. di una soluzione acquosa di Cochliobolina. Mantenute le piastre a

24 ° C. per otto giorni, furono misurate le lunghezze delle radichette e dei coleoptili sviluppatisi. I risultati, illustrati nella tabella II, indicano che la tossina ha un marcato effetto di blocco sull'accrescimento delle radichette: a concentrazione di 225 p. p. m. o superiori la radichetta non si accresce minimamente, ed a concentrazioni inferiori l'accrescimento é ridotto proporzionalmente alla concentrazione della soluzione di tossina. L'accrescimento é fortemente ridotto a 30 p. p. m., ma appare normale rispetto al controllo a 15 p. p. m. I coleoptili risentono meno dell'attività della tossina, perché possono accrescersi, se pure in lieve misura, anche a concentrazione di 300 p. p. m., ma anche in questo caso si ha una riduzione dell'accrescimento che é proporzionale alla concentrazione della tossina. Anche concentrazioni così deboli come 15 p. p. m., mostrano la loro attività sull'accrescimento del coleoptile.

Tabella I

Effetto di varie concentrazioni di Cochliobolina sull'accrescimento di plantule di riso Americano 1600 di 8 giorni di età
(media di tre replicati)

concentrazione Cochliobolina p.p.m.	% cariossidi germinate	lunghezza media in mm.	
		coleoptili	radichette principali
0	86	28,62	58,20
15	82	29,41	59,58
30	79	25,91	38,38
60	85	20,20	26,74
75	83	11,14	3,10
150	77	4,53	0,23
225	78	1,19	—
300	79	1,24	—

Tabella II

Effetto di varie concentrazioni di Cochliobolina sull'accrescimento di radichette di plantule escisse di riso Americano 1600, dopo 72 ore di permanenza in tossina
(media di cinque replicati)

concentrazione Cochliobolina p.p.m.	lunghezza iniziale mm.	lunghezza finale mm.	accrescimento mm.
0	9,4	21,2	11,8
60	9,6	10,3	0,7
150	9,6	10,4	0,8
225	9,6	9,9	0,3

Osservazioni analoghe possono essere fatte circa l'attività della sostanza sull'allungamento delle radici in plantule separate dalla cariosside. Plantule di riso Americano 1600 venivano fatte germinare e crescere in termostato finché le radichette non avessero raggiunta la lunghezza di circa 10 mm. Le plantule venivano allora staccate delicatamente dalle cariossidi e infilate in

tubetti da 5 cc., ad ognuno dei quali si aggiungevano 3 cc. di soluzione di Cochliobolina. Dopo tre giorni di permanenza in termostato a 27° C. si misurava l'allungamento delle radichette. I dati sono riportati nella Tabella II, dalla quale risulta ancora come la sostanza esplichi una netta azione di blocco sull'accrescimento delle radichette: con una soluzione di Cochliobolina a 225 p. p. m. l'accrescimento é ridotto in 72 ore dagli 11,8 mm. dei controlli a 0,3 mm.

Tabella III

Attività della Cochliobolina su sezioni di picciolo di *Beta vulgaris* var. *hortensis*, misurata come intensità di colorazione prodotadagli antociani fuoriusciti nel liquido
(media di tre replicati)

concentrazione Cochliobolina p.p.m.	% assorbimento
0	0
30	0,130
75	0,195
150	0,395
225	0,550
300	0,585

E' interessante notare a questo proposito che LUKE e WHEELER (1955) fecero analoghe osservazioni con tossine prodotte da un altro fungo, l'*Helminthosporium victoriae*. I due autori notarono che il materiale tossico ottenuto dalle colture di questo fungo determinava una forte riduzione nell'accrescimento sia delle radici che del coleoptile di avena. Essi poterono anche osservare che le radici venivano influenzate a concentrazioni molto più basse che i germogli, ciò che coincide colle mie osservazioni riportate. Da parte mia osservai anche che a 2 mm. circa dalla base della radice, e sul coleoptile delle plantule di riso si formavano delle piccole macchie necrotiche.

2) Prove sull'intensità delle alterazioni plasmatiche vennero compiute misurando l'entità della fuoriuscita degli antociani dalle cellule di picciolo di *Beta vulgaris* var. *hortensis*. Da piccioli di barbabietola da orto vennero tagliate, a diverse altezza, cinque porzioni, dalle quali furono ottenute diverse sezioni di 1 mm. di spessore. Cinque sezioni, una per ogni porzione di picciolo, furono poste in un tubetto da 5 cc., contenente 1 cc. di soluzione di tossina in tampone bifosfatico a pH 7. Dopo 5 ore di permanenza in termostato a 24° C., il campione veniva osservato e si notava la fuoriuscita

Tabella IV

Attività della Cochliobolina su segmenti di coleoptile di **avena** di 4 giorni di età, misurata come allungamento dei segmenti dopo 36 ore a 24° C
(media di 4 replicati)

concentrazione Cochliobolina p.p.m.	lunghezza iniziale mm.	lunghezza finale mm.	allungamento mm.
0	10,35	13,62	+ 3,27
30	10,00	10,62	+ 0,62
75	10,25	10,62	+ 0,37
225	10,00	9,62	− 0,38

degli antociani dalle cellule, che impartiva una colorazione rossa al liquido; l'intensità della colorazione era misurata al colorimetro Unicam, con filtro verde Ilford 625. Le letture, medie di tre replicati, sono riportate nella Tabella III, dove si può osservare un progressivo aumento della intensità della colorazione coll'aumentare della concentrazione della soluzione di Cochliobolina. Ciò evidentemente indica una progressiva profonda alterazione del plasma che termina colla sua morte.

3) Cariossidi di avena vennero fatte germinare in segatura, al buio, a 24 ° C., fino a che i coleoptili non avessero raggiunta una lunghezza di 15—20 mm. Da essi, scartati i primi 2 mm. apicali, vennero tagliati segmenti di 10 mm. di lunghezza, che furono lavati in acqua distillata per 30 minuti. Successivamente dieci di questi segmenti furono posti in una piastra Petri di 4 cm. di diametro, contenente 5 cc. di una soluzione di Cochliobolina in tampone bifosfatico a pH 7. Misurata la lunghezza dei segmenti prima di porli in contatto colla tossina, fu rilevata la loro lunghezza dopo una permanenza di 36 ore in termostato a 24 ° C. I dati sono riportati nella Tabella IV, dalla quale si può rilevare che la tossina blocca l'allungamento dei segmenti già a concentrazioni di 30 p. p. m., e a concentrazioni più forti (225 p. p. m.) ne determina un raccorciamento.

Da queste prime prove orientative risulta dunque che la Cochliobolina é capace di agire a debolissime concentrazioni, bloccando l'accrescimento delle radichette e dei coleoptili di plantule di riso, provocando gravi alterazioni del plasma e finalmente la sua morte. Sono tuttavia in corso ricerche per meglio precisare le modalità di azione.

Riassunto

Dai liquidi colturali di *Helminthosporium oryzae* é stata separata e cristallizzata una tossina, alla quale si é dato il nome di Cochliobolina. Essa é una sostanza cristallina, bianca, con punto di fusione a 180—182 ° C., debolissimamente solubile in acqua, ma completamente solubile in cloroformio ed acetone. La Cochliobolina appare fortemente tossica per le piantine di riso, nelle quali blocca, anche a concentrazioni molto ridotte, l'accrescimento delle radichette e del coleoptile. Da prime prove orientative sembrerebbe che questo blocco sia esercitato attraverso profonde alterazioni e la morte del plasma.

Zusammenfassung

Aus dem Kulturfiltrat von *Helminthosporium oryzae* wurde ein Toxin isoliert, welches wir Cochliobolin nennen. Rein bildet es weiße Kristalle, welche bei 180—182 ° C schmelzen und in Wasser sehr schlecht, in Aceton und Chloroform vollständig löslich sind. Cochliobolin ist sehr giftig für Reispflanzen; schon bei niedrigen Konzentrationen verhindert es das Wachstum der Wurzeln und der Koleoptilen. Aus den ersten Experimenten geht hervor, daß es sich um ein Plasmagift handelt.

Summary

A new toxin, Cochliobolin, has been isolated and crystallized from the culture filtrates of *Helminthosporium oryzae*. It appears as a cristalline white powder, m. p. 180—182 ° C., scarcely soluble in water, but completely soluble in chloroform and aceton. Cochliobolin is very toxic to rice seedlings, inhibiting at very low concentrations the growth of roots and coleoptiles. A few preliminary trials seem to indicate that the inhibition results from severe alterations of the plasma.

Letteratura citata

Baldacci, E., 1948: Ricerche ed esperienze sulle malattie del riso (*Oryza sativa* L.). VI: L'elmintosporiosi del riso da *Helminthosporium oryzae*. Ann. Acc. Agr. Torino **90**, 26 pp.

Cralley, E. M., e E. C. Tullis, 1937: Effect of seeds treatment on seedling emergence, severity of seedling blights and yield of rice. Bull. Ark. Agr. Expt. Sta. **345**, 24 pp.

Luke, H. H., e H. E. Wheeler, 1955: Toxin production by *Helminthosporium victoriae*. Phytopathology **45**, 453—458.

Orsenigo, M., 1955: Produzione di tossine da parte di *Helminthosporium oryzae* Breda de Haan. Ann. Sper. Agr., N. S., 47 pp.

Über die Beziehung zwischen Viruskonzentration von Impflösungen und Infektionshäufigkeit

III. Der Einfluß infektionshemmender Säfte auf die Infektiositätsverdünnungskurve*)

Von

E. Köhler, Braunschweig

Mit 9 Abbildungen

1. Die infektionshemmende Wirkung des Saftes von *Datura stramonium*

Nachdem Versuche gezeigt hatten, daß der Saft von *Datura stramonium* bei Verimpfung des Kartoffel-A-Virus auf die Blätter von *Solanum demissum* eine infektionshemmende Wirkung ausübt, wurde seine Wirkung auf die Infektiositätsverdünnungskurve bei diesem Wirt geprüft. Dazu wurden — wie allgemein in den nachstehenden Versuchen, soweit sie selbst ausgeführt wurden — die von groben Bestandteilen befreiten Blattrohsäfte mit dem Glasspatel auf die Blätter bzw. Spitzenfiedern verimpft. Gleich nach der Impfung wurden die Blätter unter dem Strahl der Wasserleitung kurz, aber gründlich abgespült, um den überschüssigen Impfsaft zu entfernen. Danach wurden sie in feuchtgehaltene Petrischalen gelegt und bei 20 bis 24 ° C unter Dauerlicht gehalten, bis die Infektionsherde gezählt werden konnten.

Über zwei Versuche des Jahres 1956 unterrichtet Abbildung 1. Bei diesen Versuchen wurde zunächst der auf $^1/_4$ verdünnte Daturasaft zu gleichen Teilen mit dem Saft von Tabakpflanzen der Sorte „Samsun Bashi Baghli gestielt", die mit dem A-Virus systemisch infiziert waren, gemischt. Von den Gemischen wurden Verdünnungsreihen hergestellt. Jede Stufe wurde alsdann unter Verwendung von Karborundpuder auf Endfiedern verimpft, und zwar im Versuch vom 28. 6. auf 8, im Versuch vom 20. 6. auf 10 Fiedern. Auf Abbildung 1 sind die Mittelwerte in ein Koordinatensystem eingetragen, dessen Ordinate logarithmisch geteilt ist. Die Kurven beider Versuche zeigen bei unterschiedlichem Niveau gute Übereinstimmung. Bei der Verdünnung $^1/_4$ beträgt die Infektiosität das Drei- bis Vierfache von „unverdünnt"; darauf folgt ein zunächst langsamer, dann schneller Abstieg, der bei der Verdünnung $^1/_{256}$ sein Ende noch nicht erreicht hat. Es zeigt sich also, daß die Infektiosität mit abnehmender Konzentration des Impfgemisches zunächst ansteigt. Der im Versuch vom 28. 6. verwendete unverdünnte A-Virus-Saft (von Samsun) war zur Kontrolle statt mit Daturasaft mit Wasser gemischt und das Ge-

*) Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

misch auf 10 Endfiedern verimpft worden; insgesamt erschienen bei der Kontrolle 646 Infektionsherde gegenüber nur fünf beim entsprechenden Daturagemisch. — Entsprechende Versuche wurden auch ohne Verwendung von Karborund ausgeführt. Dabei zeigte sich dann, daß nur die Lage des Maximums durch wenige Infektionen angedeutet war, während im übrigen überhaupt keine Infektionen zustande kamen.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden zunächst vom Blattsaft gesunder Daturapflanzen Verdünnungsreihen hergestellt. Die einzelnen Stufen wurden mit gleichen Mengen eines Saftes aus A-infizierten Samsunpflanzen gemischt. Auf dem Diagramm (Abb. 2) ist das Ergebnis von drei solchen Versuchen niedergelegt. Die Infektiosität steigt in dem vorliegenden Verdünnungsbereich bei allen drei Versuchen mit abnehmendem Gehalt an Datursaft steil an. Die Hemmwirkung des Datursaftes folgt bei allen drei Versuchen derselben Gesetzmäßigkeit. Dies zeigt sich noch deutlicher, wenn man den Wert für die höchstmögliche Infektionszahl „N" zu den Versuchen ermittelt, was nach unseren früheren Angaben bequem durch Extrapolation geschieht (die gefundenen N-Werte sind neben den Linien auf Abbildung 3 verzeichnet). Setzt man die N-Werte = 100, rechnet die gefundenen Einzelwerte in Prozente um und überträgt diese in ein Wahrscheinlichkeitsnetz

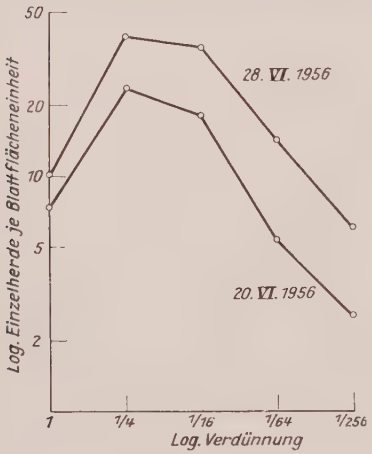


Abb. 1

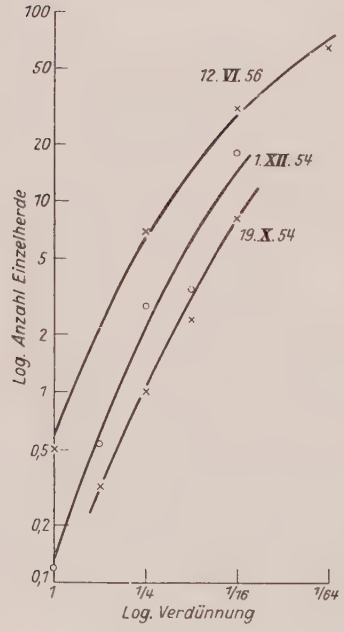


Abb. 2

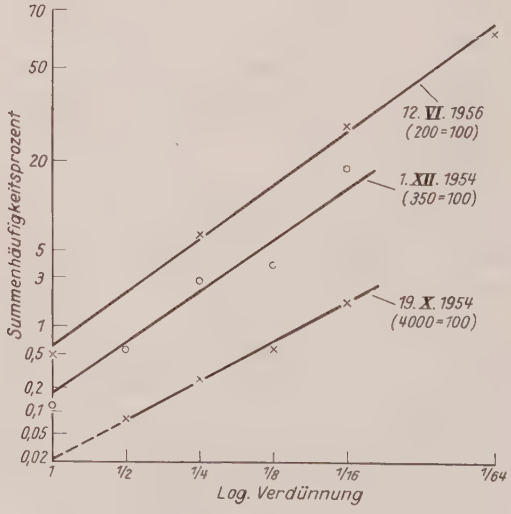


Abb. 3

(Abb. 3), so lassen sie sich durch gerade Linien miteinander verbinden. Der Verlauf entspricht sonach ganz eindeutig einer Dosis-Effektkurve. Wären die Verdünnungsserien weitergeführt worden, so hätten die Linien nach Erreichung ihrer Maxima in die Horizontale abbiegen müssen.

Die Kurven vom 12. 6. 1956 und 1. 12. 1954 (Abb. 2 und 3) können vermutlich als parallel angesehen werden, jedoch wäre diese Vermutung noch mathematisch zu sichern. Nicht mit ihnen parallel geht die Kurve vom 19. 10. 1954, was offenbar darauf beruht, daß hier nicht wie sonst *S. demissum*, sondern der *S. demissum*-Bastard „A 6" als Testpflanze gedient hatte.

Ganz analoge Ergebnisse lieferte das Kartoffel-Y-Virus, wenn es im Gemisch mit Daturasaft auf den *Solanum demissum*-Bastard „A 6" verimpft wurde. Hier war die infektionshemmende Wirkung weniger stark (oder die Empfänglichkeit des Wirtes höher), so daß ohne Karborund geimpft werden konnte. Ein Versuch (13. 7. 56), bei dem das Ausgangsgemisch (Daturasaft mit A-Virus-Saft von Samsuntabak 1 : 1) verdünnt wurde, lieferte folgende Werte auf je 10 Spitzenfiedern:

Unverdünnt	1/4	1/16	1/64
28	54	20	6

Auch hier ergab sich wie bei den Versuchen mit dem A-Virus ein Maximum bei 1/4. Bei einer Wasserkontrolle erschienen 400 Herde gegenüber dem entsprechenden Wert 28.

In einem anderen Versuch (26. 10. 54) wurde zunächst eine Verdünnungsreihe von *Datura stramonium*-Saft hergestellt. Die Verdünnungsstufen wurden zu gleichen Teilen mit Y-Virus von Samsun gemischt. Geimpft wurden je 10 Spitzenfiedern von „A 6". Das Ergebnis war folgendes:

Anzahl Einzelherde je Blattfieder (Mittelwerte)

Unverdünnt	1/2	1/6	1/11	1/21
141	204	230	238	278

Durch Extrapolation geschätzter Wert für N = 320. Setzt man N = 100 und berechnet die Prozente, so schwanken die Werte bei Übertragung in das Wahrscheinlichkeitsnetz wieder um eine Gerade (Abb. 4).

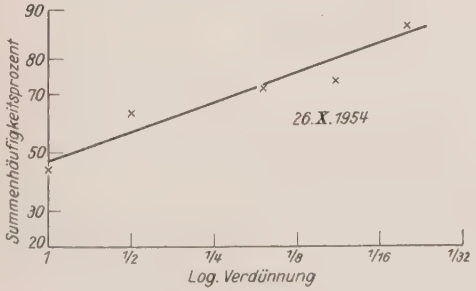


Abb. 4

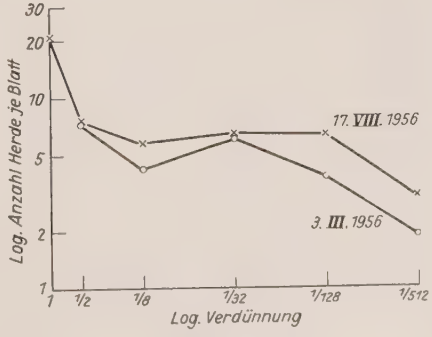


Abb. 5

In weiteren Versuchen wurde die Infektiosität des Kartoffel-X-Virus bei Verimpfung auf *Gomphrena globosa* untersucht. Dazu wurde der Mischsaft aus Blättern von mit dem X-Stamm „M 23" systemisch infizierten Daturapflanzen mit Wasser verdünnt. Im ersten derartigen Versuch (3. 3. 56) wurden je 10, im zweiten (17. 8. 56) je 20 *Gomphrena-Blätter* (ohne Karborund) geimpft. Nachstehend die Ergebnisse:

Anzahl Einzelherde je Blatt

Verdünnung	1	1/2	1/8	1/32	1/128	1/512
1. Versuch	—	7,3	4,3	6,2	3,6	1,9
2. Versuch	21	7,6	5,8	6,4	6,9	3,0

Auf Abbildung 5 ist der Verlauf in Kurvenform dargestellt. Man stellt eine weitgehende Ähnlichkeit der beiden Kurven fest. Das Ergebnis unterscheidet sich aber beträchtlich von den oben mitgeteilten Befunden über Gemischverdünnungen bei den anderen Wirt-Viruskombinationen. Zwar ist augenscheinlich ein Maximum bei der Verdünnung 1/32 vorhanden, dieses ist aber sehr niedrig und weit hinausgeschoben. Eine infektionshemmende Wirkung ist auch hier vorhanden, sie ist aber weit schwächer als bei unseren obigen Beispielen. Augenscheinlich ist *Gomphrena globosa* gegen Daturasaft relativ wenig empfindlich. Der Fall bedarf noch einer näheren Analyse.

2. Die infektionshemmende Wirkung des Saftes von White Burley-Tabak

In einem Vorversuch wurde ein Blattsaft von White Burley-Pflanzen, die mit dem A-Virus systemisch infiziert waren, im einen Falle unverdünnt, im anderen mit Wasser im Verhältnis 1 : 1 verdünnt auf je 15 Spitzenfiedern von Blättern des *Solanum demissum*-Bastards „5/52" durch Einreiben mit Karborund verimpft. Bei dem verdünnten Saft betrug die Infektionshemmung rund 50 % des unverdünnten.

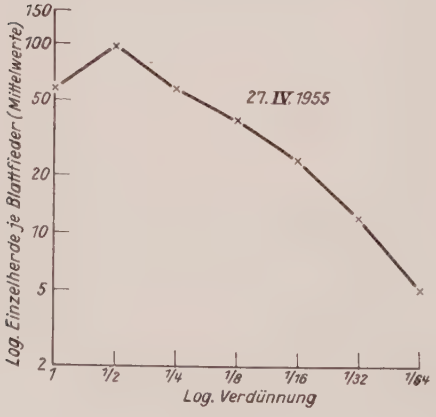


Abb. 6

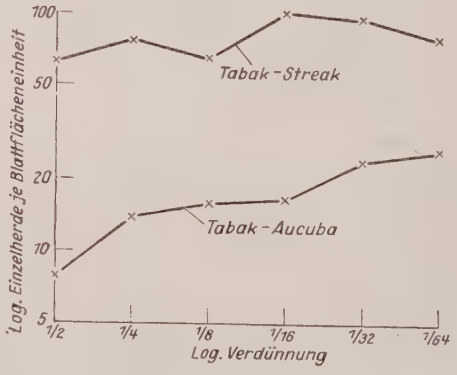


Abb. 7

In einem anderen Versuch wurde von einem ebensolchen White Burley-Saft eine Verdünnungsreihe auf Blätter des gleichen Bastards verimpft. Das Ergebnis ist auf Abbildung 6 graphisch dargestellt. Der Charakter der Kurve entspricht etwa dem von Abbildung 1, wenn auch die Hemmung dort ungleich stärker ist. Durch den vorstehenden Versuch werden ältere Ergebnisse von Bald (1937, S. 67) bestätigt, der gleichfalls auf eine Hemmwirkung des White Burley-Saftes in Verdünnungsreihen mit dem Tabak-Aucubavirus und dem Tabak-Streakvirus aufmerksam machte: Ein White Burley-Saft wurde verdünnt, die Stufen wurden je mit gleichen Teilen Impfsaft der beiden Viren gemischt und auf *Nicotiana glutinosa* verimpft. Wir bringen das Ergebnis als Diagramm (Abb. 7). Man sieht, daß in dem Versuch mit dem Aucubamosaik (untere Kurve) die Infektiosität mit sinkendem White Burley-Anteil annähernd geradlinig ansteigt. Beim Streakvirus (obere Kurve) liegt im ganzen gleichfalls ein Anstieg vor, im übrigen sind die Werte wegen des hohen Fehlers unsicher.

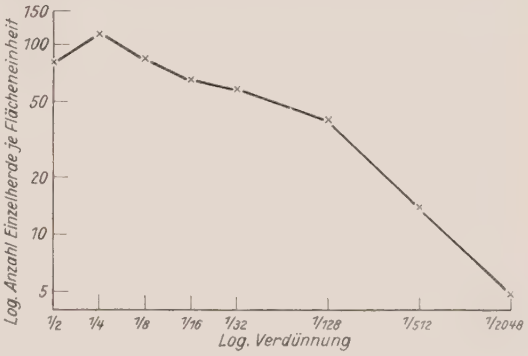


Abb. 8

In einem anderen Versuch verimpfte Bald (a. a. O. S. 68) eine Verdünnungsserie von Aucuba-krankem White Burley-Saft. Nach seinen Zählergebnissen konstruierten wir die Kurve in Abb. 8. Sie zeigt hinter dem Maximum einen Sattel, der für derartige Hemmungskurven typisch zu sein scheint und der auch in unserer Abbildung 6 deutlich, in den Abbildungen 1 und 5 weniger deutlich zum Ausdruck kommt.

3. Kein hemmendes Prinzip im Saft des Samsuntabaks

Zu vielen der vorstehend und an anderer Stelle mitgeteilten Versuche wurden Inokula verwendet, die vom Samsuntabak stammten oder mit Saft von solchem Tabak gemischt waren. Es ist daher wichtig, festzustellen, ob der Saft aus Samsuntabak eine infektionshemmende Wirkung ausübt oder nicht. Daß dies nicht der Fall ist, läßt u. a. der nachstehende Versuch vom 18. 10. 44 erkennen, bei dem von zwei gleichen Portionen eines vom Samsuntabak stammenden TMV-Saftes die eine mit Saft von gesundem Samsunsaft und die andere mit destilliertem Wasser (je 1 : 1) verdünnt wurde. Die Verimpfung der einzelnen Stufen der damit hergestellten Verdünnungsreihen erfolgte jeweils auf Blatthälften von *Nicotiana glutinosa* (rechte und linke Hälften in zeitlichem Wechsel geimpft), und zwar ohne Verwendung von Karborund. Über das Ergebnis unterrichtet die folgende Tabelle.

Anzahl Einzelherde auf vier Blatthälften

Verdünnungsstufe	Saftverdünnung		Wasserverdünnung	
	Anzahl	Prozente (N=150)	Anzahl	Prozente (N=150)
1 (unverdünnt)	94	62,7	94	62,7
1/2	68,6	45,7	63,2	42,0
1/4	53,3	35,5	45,8	30,5
1/8	51,4	34,3	27,8	18,6
1/16	35,8	24,0	27,0	18,0
1/32	36,4	24,3	31,1	20,7
1/64	16,8	11,2	12,4	8,2
1/128	18,7	12,5	17,4	11,6
1/256	10,4	6,9	7,5	5,0
1/512	8,3	5,5	7,9	5,2

Auf dem dazugehörigen Diagramm (Abb. 9) sind die Prozente (N = 150) in ein Wahrscheinlichkeitsnetz übertragen. Man sieht, daß die Werte der Saftverdünnung (Ringe) sich ganz normal um eine absteigende Gerade gruppieren. Es zeigt sich also, daß von einer Hemmwirkung des Samsuntabak-Saftes keine Rede sein kann. Auffälligerweise liegen die Werte der Wasserverdünnung (Kreuze) durchweg etwas unterhalb von denen der Saftverdünnung. Ob diese Abweichung reell ist, wurde nicht geprüft.

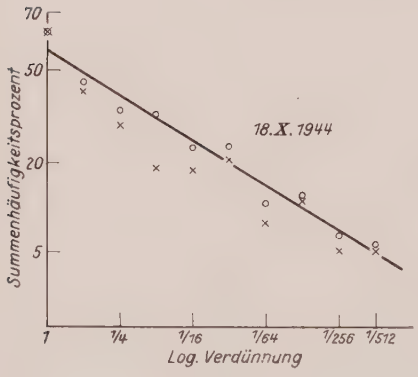


Abb. 9

Zusammenfassung und Schluß

Die infektionshemmende Wirkung der Blattsäfte aus *Datura stramonium* und White Burley-Tabak wurde untersucht.

1. Daturasaft: Wurden Impfsäfte der Kartoffelviren A und Y mit Daturasaft gemischt und von den Gemischen Verdünnungsreihen hergestellt, die auf geeignete Wirtspflanzen verimpft wurden, so zeigte die Infektiositätsverdünnungskurve zunächst einen deutlichen Anstieg, darauf folgte ein allmählicher Abstieg (Abb. 1).

Wurde der Daturasaft den Impfsäften in abnehmenden Mengen zugesetzt, so zeigte die Infektiositätsverdünnungskurve im Anfangsverlauf (beim A-Virus mindestens bis zur Verdünnung 1/64) einen gesetzmäßigen Anstieg (Abb. 2). Bei Übertragung der umgerechneten Werte in ein Wahrscheinlichkeitsnetz, dessen Ordinate nach dem Gaußschen Integral geteilt ist, ergibt sich eine gerade Linie (Abb. 3 und 4). Die Kurve hat sonach den Charakter

einer gewöhnlichen Dosis-Effektkurve, wie sie aus der Toxikologie bekannt ist. Dies kann als ein neuer Beweis für die Richtigkeit der Vorstellung genommen werden, daß die durch den Daturasaft ausgeübte Infektionshemmung lediglich durch eine toxische Wirkung auf das geimpfte Gewebe (die Infektionswunden) verursacht ist. Ein entsprechender Versuch mit dem Tabakmosaikvirus ließ denselben Hemmungsmodus erkennen. — Eine stärkere Abweichung, die noch der weiteren Analyse bedarf, zeigte sich bei Verimpfung des Kartoffel-X-Virus auf *Datura stramonium* (Abb. 5).

2. Saft von White Burley-Tabak. Im Prinzip ähnlich ist auch die Wirkung dieses Saftes in Impfgemischen mit dem A-Virus sowie (nach Bald, 1937) dem Tabak-Aucubavirus und dem Tabak-Streakvirus. Nach Daten, die von Bald bei einem Verdünnungsversuch mit dem Saft Aucuba-infizierten White Burley-Tabaks gewonnen waren, wurde von uns die Infektionsverdünnungskurve gezeichnet (Abb. 8). Diese läßt in ihrem Verlauf hinter dem Maximum eine Einbuchtung (Sattel) erkennen, die weniger ausgeprägt auch bei den Abbildungen 1, 5 und 6 zum Vorschein kommt und für den hier vorkommenden Hemmungsmodus typisch zu sein scheint.

3. Schließlich wird ein Versuch mit dem Tabakmosaikvirus mitgeteilt (Abb. 9 und Tabelle S. 202), der nachweist, daß der Saft des zu quantitativen Versuchen viel verwendeten Türkischen Samsuntabaks bei Verimpfung auf *Nicotiana glutinosa* keine infektionshemmende Wirkung hat.

Literaturverzeichnis

Bald, J. G., 1937: The use of numbers of infection for comparing the concentration of plant virus suspensions. II. Distortion of the dilution series. Ann. appl. Biol. **24**, 56—76.

Köhler, E., 1956: Über die Beziehung zwischen Viruskonzentration und Infektionshäufigkeit. II. Das übereinstimmende Verhalten verschiedener Virusarten. Phytopath. Z. **28**, 451—456.

— — und D. Köhler, 1956: Über die Beziehung zwischen Viruskonzentration und Infektionshäufigkeit. (I). Biol. Zbl. **75**, 531—543.

Aus dem Phytopathologischen Institut
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
und der Biologischen Zentralanstalt
der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin,
Institut für Phytopathologie Aschersleben

Direktor: Prof. Dr. M. Klinkowski

Beiträge zur Kenntnis der Viruskrankheiten an Unkräutern

III. Das Gurkenmosaikvirus

Von

Alice Hein

Mit 15 Abbildungen

Inhalt: 1. Das Krankheitsbild der Ausgangspflanzen a) Isolierung und Identität verschiedener Isolierungen b) Reproduktion der Symptome bei den Ausgangspflanzenarten — 2. Wirtspflanzenkreis — 3. Möglichkeiten der Übertragung a) Mechanische Übertragung b) Übertragung mit Hilfe von *Cuscuta campestris* Yunck. c) Insektenübertragung d) Samenübertragung — 4. Eigenschaften des Virus a) Thermale Inaktivierung b) Grenzpunkt der Verdünnung c) Lebensbeständigkeit in vitro d) Inaktivierung des Virus durch Trocknung der infizierten Pflanze — 5. Prämunität — 6. Systematische Zugehörigkeit der Isolierungen — Zusammenfassung — Literaturverzeichnis

Der größte Teil der isolierten Viren erwies sich, wie zu erwarten war, als zur Gruppe des auch in Mitteldeutschland sehr stark verbreiteten Gurkenmosaikvirus (GMV) gehörig. Von diesem Virus ist bekannt, daß es vor allem in und in der Nähe von Ortschaften vorkommt (Richter, 1939), da es u. a. in Gartenpflanzen, z. B. mehrjährigen Staudengewächsen, günstige Überwinterungsmöglichkeiten besitzt und von dort aus in die nähere Umgebung durch seine Vektoren verbreitet wird. Die Ausgangspflanzen der verschiedenen Isolierungen des Virus wurden ausnahmslos noch im Stadtgebiet von Aschersleben gefunden. Das Virus wurde durch mechanische Inokulation isoliert von:

Galinsoga quadriradiata Ruiz et Pav.,
Galinsoga parviflora Cav.,
Mercurialis annua L.,
Sonchus oleraceus L.,
Datura stramonium L. und
Solanum nigrum L.

Alle diese Unkräuter sind einjährige Arten. Sie könnten vielleicht für die Ausbreitung des Gurkenmosaikvirus dadurch Bedeutung haben, daß sie als Glieder der Infektkette, etwa im Sinne von GÄUMANN (1951), von den Ortschaften hinaus in die Feldbestände dienen könnten.

Es stand kein einwandfreier Stamm dieses Virus zu Vergleichszwecken zur Verfügung. Die von *Galinsoga quadriradiata* erhaltene Isolierung wurde deshalb in ausgedehnteren Testen in der gleichen Weise wie für das Luzernemosaikvirus beschrieben (HEIN, 1957) in ihren Eigenschaften und in den durch sie verursachten Symptomen geprüft. Da das Virus durch seine Reaktion auf verschiedenen Wirtspflanzen relativ leicht zu erkennen ist, wurden die übrigen nur im Vergleich zu der als Gurkenmosaikvirus identifizierten Isolierung auf ihre mehr oder weniger großen Abweichungen von dieser bezüglich der Symptomausprägung untersucht. Der für alle Isolierungen positive Ausfall der Prämunitätsteste mit einem Gelbstamm dieses Virus und die erfolgreichen *Cuscuta*-Übertragungen stützten die Sicherheit ihrer Zuordnung in die Gruppe des Gurkenmosaikvirus.

Abb. 1. *Galinsoga quadriradiata* Ruiz et Pav.; oben: Gurkenmosaik-infiziert (Freiland); Mitte: gesund (Freiland); photographiert: 3. 9. 1954; unten: rechts und links: Blätter experimentell infizierter Pflanzen; Mitte: Kontrolle; infiziert: 6. 9. 1954; photographiert: 25. 11. 1954

1. Das Krankheitsbild der Ausgangspflanzen

Galinsoga quadriradiata Ruiz et Pav.; *G. parviflora* Cav. (Isolierung 32):

Infizierte Pflanzen dieser Arten wurden in größerer Zahl 1953, in geringerer 1954 in einem Garten in der Nähe des Versuchsgeländes Aschersleben gefunden. Ihr auffallendstes Symptom bestand in einem hellgrün-gelblichen, diffusen Mosaik, das gleichmäßig alle Blätter bedeckte. Die Blattspreiten waren mehr oder weniger verbeult und gekrümmt, sie waren verkleinert, wiesen kleine Risse auf und waren häufig auch vom Rand her eingerissen. Spitzenblätter schwer infizierter Pflanzen waren oft etwas verschmälert (Abb. 1, oben). Eine schwache Stauchung war an allen infizierten Pflanzen erkennbar, die einzelnen Internodien erschienen etwas verkürzt. Beide *Galinsoga*-Arten zeigten die gleichen Anomalien.

Abb. 2. *Mercurialis annua* L. (Freiland); links: gesund; rechts: Gurkenmosaik-infiziert; photographiert: 22. 9. 1954

Mercurialis annua L. (Isolierung 29):

Am gleichen Standort hat sich das Bingelkraut (*Mercurialis annua*) außerordentlich stark vermehrt und der größte Teil der Pflanzen war in den Sommern 1953 und 1954 infiziert. Der Schädigungsgrad, den die einzelnen infizierten Pflanzen zeigten, war offenbar abhängig vom Zeitpunkt der Infektion. Es wurden Pflanzen gefunden, die erheblich kleiner waren als gesunde. Alle Blätter wiesen dann gleichmäßig ein Hellgrün-dunkelgrün-Mosaik auf, das die Spreiten völlig bedeckte und von einer Verschmälerung und Verkleinerung der Blätter begleitet war. Alle Blätter waren stark gekräuselt und verbeult, häufig etwas verdreht, die Blattränder gewellt (Abb. 2). Derartige Pflanzen wirkten buschiger als gesunde oder erst spät im Jahr infizierte. Die

letzteren konnten nur an einem Achseltrieb die beschriebenen Symptome tragen oder nur an den Blättern der Spitze des Haupttriebes. In einigen Fällen wiesen nur einzelne Blätter Anzeichen einer Infektion auf; sie konnten auch nur jeweils am Blattgrund Symptome zeigen, während die Spitzen der Blätter gesund erschienen. Der Blüten- und Samenansatz waren normal. *Mercurialis annua* wurde auch in größerer Entfernung vom Stadtrand noch infiziert gefunden. Gleiche Symptome aufweisende Pflanzen konnten 1954 vereinzelt in Stichelsdorf bei Halle beobachtet werden.

Sonchus oleraceus L. (Isolierung 31):

Neben dem leuchtenden Gelbmosaik, das die mit Luzernemosaikvirus infizierte *Sonchus oleraceus* zeigte, war im Versuchsgelände auch eine wesentlich schwächere Abweichung vom Normalen an diesem Unkraut zu beob-

Abb. 3. *Sonchus oleraceus* L. (Freiland); links: gesund; rechts: Gurkenmosaik-infiziert; photographiert: 22. 10. 1954

achten. Die Mehrzahl der Blätter derartiger Pflanzen bedeckte eine Helldunkelgrün-Mosaikscheckung, die sehr diffus war und wenig deutlich und bei der die Größe der aufgehellten bzw. noch normal gefärbten Partien sehr unterschiedlich sein konnte (Abb. 3). Die Scheckung konnte die Blätter ganz überziehen, teilweise war sie aber nur auf einzelne Zonen der Blattspreiten oder auf die Blattränder beschränkt. Infolge einer leichten Aufbeulung der dunkelgrünen Gewebepartien waren die Blattspreiten mehr oder weniger stark blasig verdellt. Vereinzelt rollten sich die Blattränder nach unten ein. Die jüngsten Blätter wiesen die stärksten Symptome auf, d. h. alle Spitzenblätter waren gleichmäßig und kleinfleckig mosaik-gescheckt und meistens zusammengerollt.

Datura stramonium L. (Isolierung 42):

Eine einzelne Pflanze wies über alle Blätter eine Musterung von gelblichgrünen, gezonten Ringen und gezonten Bändern in den verschiedensten Formen und Verteilungen auf. An den Spitzenblättern war sie diffuser und grob verlaufend, auf den voll ausgewachsenen Blättern sehr deutlich gezeichnet und scharf gegen das umgebende Gewebe abgesetzt. Daneben traten noch größere und kleinere, kompakte, gelblich-grüne Flecke von mehr rundlicher Form und unregelmäßiger Verteilung auf (Abb. 4). Eine etwaige Anomalität in der Wuchsform oder eine Wuchsdepression konnte infolge fehlender Vergleichspflanzen am gleichen Standort nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Die Pflanze blühte normal und setzte Früchte an.

Abb. 4. *Datura stramonium* L. (Freiland); Gurkenmosaik-infiziert; photographiert: 11. 9. 1954

Abb. 5. *Solanum nigrum* L. (Freiland); Gurkenmosaik-infiziert; photographiert: 22. 9. 1954

Solanum nigrum L. (Isolierung 43):

Neben den stark gelbgefleckten *Solanum nigrum*, die sich als Luzernemosaikvirus-infiziert erwiesen, traten am gleichen Standort Pflanzen auf, bei denen die Blattadern diffus aufgehellt waren. Die Interkostalfelder waren etwas verkräuselt und aufgedellt. Auf den Blättern kam es dadurch zu einem Mosaikeindruck (Abb. 5). Eine Wachstumsbeeinträchtigung war nicht feststellbar.

a) Isolierung und Identität verschiedener Isolierungen

Isolierung 32:

Von *Galinsoga quadriradiata* und *G. parviflora* wurden im August und September 1953 zwei, im Sommer 1954 vier mechanische Inokulationen auf

Testpflanzen durchgeführt. Der erste Versuch zur Isolierung erfolgte dabei auf das bereits früher genannte Testsortiment, die nachfolgenden Abreibungen nur auf *Nicotiana tabacum,* Sorte Samsun und *N. glutinosa.* Bei jeder dieser Übertragungen wurden die Tabakarten nahezu 100%ig infiziert.

Alle Isolierungen wurden in Vergleichsabreibungen nebeneinander auf verschiedene Testpflanzen übertragen. Die Symptome an *Chenopodium quinoa, Spinacia oleracea, Amarantus retroflexus, Vicia faba* und *Cucumis sativus* waren für die *Galinsoga*-Isolierungen gleich, sie differierten jedoch in den stärker differenzierenden Wirten *Datura stramonium, Nicotiana tabacum,* Sorte Samsun und *Petunia hybrida.*

Isolierung 29:

Drei Isolierungen von *Mercurialis annua* wurden durch Abreibung auf *Nicotiana tabacum,* Sorte Samsun, und *N. glutinosa* im Sommer 1953 und 1954 erhalten. Bei vergleichender Abreibung zu diesen Arten und *Nicotiana silvestris, N. rustica* und *N. affinis* erwiesen sie sich an Hand der Symptome als identisch. Toxinschäden, wie sie Tjallingii (1951) an mit *Mercurialis*-Preßsaft abgeriebenen Gurken feststellte, waren an Tabak nicht zu beobachten, ebenso konnte kein Anzeichen für eine Infektionshemmung bei der Übertragung von *Mercurialis* auf Tabak beobachtet werden.

Isolierung 31:

Das Virus wurde im August 1953 durch Saftinokulation von *Sonchus oleraceus* isoliert. Im gleichen Jahr wurde eine, im folgenden wurden zwei Kontrollisolierungen vorgenommen. Bei einer wie für die *Galinsoga*-Isolierungen durchgeführten Vergleichsabreibung auf eine Reihe verschiedener Testpflanzen reagierten diese gleich. Die Symptome entsprachen den für die Standardisolierung (Isolierung 32) nachfolgend beschriebenen.

Isolierung 42:

Von *Datura stramonium* wurde je ein Isolierungsversuch im September und Oktober 1954 auf Samsun-Tabak und *Nicotiana glutinosa* durchgeführt. Beide Male erhielt ich einige infizierte Pflanzen und von diesen aus erfolgten Saftinokulationen auf die für das *Galinsoga*-Virus angeführten Testpflanzen. Beide Isolierungen glichen in den durch sie hervorgerufenen Symptomen der Standardisolierung.

Isolierung 43:

Nur eine Abreibung wurde von den beschriebenen *Solanum nigrum* auf *Nicotiana glutinosa* versucht. Die Pflanzen zeigten 100%ig gurkenmosaikvirus-ähnliche Symptome. In vergleichenden Abreibungen erwies sich diese Isolierung als identisch mit der Standardisolierung, nur waren die Symptome für die hier beschriebene auf *Petunia hybrida* schwerer.

b) Reproduktion der Symptome bei den Ausgangspflanzenarten

Für die Rückübertragung auf die Ausgangspflanzenarten wurden die jeweils ersten Isolierungen verwendet. *Mercurialis annua* und *Sonchus ole-*

raceus entwickelten — im Gewächshaus aus Samen gezogen — nach Inokulation mit den von ihnen erhaltenen Isolierungen die gleichen Symptome, wie sie auch an Freilandpflanzen beobachtet worden waren. — Beide *Galinsoga*-Arten zeigten nach experimenteller Infektion niemals so deutliche Krankheitserscheinungen wie natürlich infizierte. In 8 Reihen wurden zu verschiedenen Terminen insgesamt 129 Pflanzen beider Arten durch Abreiben zu infizieren versucht. Nur wenige entwickelten Symptome und diese waren in der Regel sehr viel schwächer ausgebildet als an Freilandpflanzen. Sie bestanden meistens in einer sehr schwachen Mosaikscheckung oder einer diffusen Adernbänderung, die auf einzelne Blätter beschränkt sein konnte und nur gelegentlich einmal zu merkbaren Verbiegungen und Wellungen der Blätter führte (Abb. 1, unten). Ins Freiland verpflanzte, experimentell infizierte Pflanzen entwickelten keine stärkeren Anzeichen einer Infektion und die mechanische Inokulation einer größeren Zahl gesund ausgepflanzter *Galinsoga* brachte im Freiland keine deutlicheren Infektionsergebnisse. TJALLINGII (1951) konnte auf *Galinsoga parviflora* nach mechanischer Inokulation keine Symptome beobachten, obwohl die Rückübertragung des Virus zu Gurken gelang. Durch Rückinfektion auf *Nicotiana glutinosa* wurde auch in den vorliegenden Untersuchungen die Anwesenheit des Virus in experimentell infizierten Pflanzen nachgewiesen. — An *Datura stramonium* konnte durch beide Isolierungen nur eine sehr schwache, diffuse Scheckung an den jungen, sich neu entwickelnden Blättern beobachtet werden. Die sehr deutlichen Symptome der Ausgangspflanze waren bei experimenteller Infektion auf Testpflanzen der gleichen Art nicht reproduzierbar. — AINSWORTH (1935) konnte *Solanum nigrum* experimentell nicht infizieren. Es waren auch in den hier beschriebenen Rücktesten auf *Solanum nigrum* nach mechanischer Inokulation keine Anzeichen einer Infektion sichtbar, obwohl das Virus sich in den Testpflanzen vermehrte und durch Rückübertragung auf *Nicotiana glutinosa* nachgewiesen werden konnte.

Eine Korrelation zwischen dem isolierten Virus und den beschriebenen Anomalien auf den Ausgangspflanzen konnte nur für *Mercurialis annua, Sonchus oleraceus* und bedingt für *Galinsoga parviflora* nachgewiesen werden. Die Frage, ob die beschriebenen Symptome an *Datura stramonium* und *Solanum nigrum* durch dieses Virus nur unter Freilandbedingungen verursacht werden oder durch ein anderes, durch das begrenzte Testsortiment oder die Übertragungsweise nicht erfaßtes Virus, bleibt offen.

HERBERT beschrieb 1939 unter der Bezeichnung *Galinsoga* Virus 1 oder *Galinsoga* curly-top Virus eine sehr starke Anomalien bewirkende Krankheit an *G. parviflora*. Die Schwere der verursachten Symptome unterscheidet dieses Virus deutlich von den hier beschriebenen. *Galinsoga parviflora* und *Datura stramonium* werden von HEINZE (1939) als „Zwischenträger" des Lupinenbräune-Virus angegeben, das identisch mit dem Gurkenmosaikvirus ist (KÖHLER, 1935). *Datura stramonium* beobachtete schon AINSWORTH (1935) als natürlich mit dem Gurkenmosaikvirus infiziert. *Mercurialis annua* ist seit den Arbeiten von TJALLINGII (1951) als Wirt des Gurkenmosaikvirus bekannt. *Solanum nigrum* wird durch KÖHLER und KLIN-

KOWSKI (1954) angegeben; die Autoren erwähnen jedoch in ihrer sehr umfangreichen Zusammenstellung *Sonchus oleraceus* als Wirtspflanze nicht. Dieses Unkraut scheint demnach ein neu festgestellter Wirt des Gurkenmosaikvirus zu sein, kann jedoch für dessen Überwinterung durch seine auf eine Vegetationsperiode beschränkte Lebensdauer, ebenso wie die anderen hier erwähnten Ausgangspflanzenarten, keine besondere Bedeutung beanspruchen.

2. Wirtspflanzenkreis

Die hier beschriebenen Isolierungen wurden auf eine Reihe von Pflanzenarten abgerieben, um Aufschluß über ihre Identität zu erhalten. Jeder der Teste wurde zwei- bis dreimal zu möglichst verschiedenen Jahreszeiten durchgeführt. Zur Herstellung des infektiösen Preßsaftes dienten etwa 3 bis 4 Wochen vorher inokulierte *Nicotiana glutinosa*. Rückteste zum Nachweis einer eventuellen Vermehrung des Virus erfolgten nur für solche Reihen, in denen Symptome nicht oder nur schwach auftraten. Eine Übersicht über die inokulierten Pflanzenarten gibt die Tabelle 1.

Auch für die Isolierungen des Gurkenmosaikvirus sollen die Symptome nur für solche Wirtspflanzen beschrieben werden, deren Reaktionen für die Identifizierung der Isolierungen wichtig waren und für solche, auf denen sich die einzelnen Isolierungen voneinander unterschieden.

Chenopodium quinoa L.:

USCHDRAWEIT (1954, 1955) fand in *Chenopodium quinoa* eine brauchbare und schnell reagierende Testpflanze für das Gurkenmosaikvirus. Sie konnte auch in meinen Untersuchungen mit Erfolg zum Nachweis dieses Virus benutzt werden.

Schon 3, spätestens 5 Tage nach der Abreibung reagierten die Pflanzen mit der Ausbildung zahlreicher, zunächst leuchtend gelber, später sich etwas bräunlich färbender Flecke, die etwa 7 bis 8 Tage nach der Inokulation hellbraun-nekrotisch wurden (Abb. 6). Die einzelnen gelben Flecke waren anfänglich etwa 1 mm groß und hatten ein nadelstichgroßes nekrotisches Zentrum. Die Nekrosen vergrößerten sich bis auf ungefähr 3 bis 4 mm im Durchmesser und hatten dann nur noch einen schmalen,

Abb. 6. *Chenopodium quinoa* L.; infiziert: 9. 6. 1954; photographiert: 15. 6. 1954

gelben, etwas diffusen Hof. Es erfolgte keine systemische Infektion, was ROBERTS, WILKINSON und ROSS (1951) auch für *Chenopodium hybridum* bei der Infektion mit 22 Isolierungen des GMV feststellen konnten.

Spinacia oleracea L., Sorte Matador:

Bei Infektionen im Winterhalbjahr zeigten die Pflanzen in der Regel die durch HOGGAN (1933 a) und SMITH (1937) beschriebenen schweren Symptome. Die äußeren Blätter der Rosetten entwickelten nach 8 bis 10 Tagen als erstes Symptom eine gelbfleckige Aufhellung der Interkostalfelder. Auch die inneren Blätter wurden allmählich fleckig und alle neu sich entfaltenden wiesen mehr oder weniger starke Anomalien auf. Sie waren kleiner, häufig verdreht und durch Aufbeulung der Interkostalfelder fein gerippt erscheinend (Abbildung 7). Später entwickelte sich eine allmählich fortschreitende Nekrose, die zuerst die äußeren Wirtel ergriff und dann auch auf die inneren überging. Die Pflanzen waren gewöhnlich 4 Wochen nach der Inokulation abgestorben bzw. zu einem kleinen zentralen Blätterbüschel reduziert (Abb. 8). Im Sommerhalbjahr infizierte Pflanzen zeigten schwächere Symptome, wie sie ROLAND (1939), TJALLINGII (1951) u. a. beschreiben. Nekrosen traten an diesen Pflanzen nur gelegentlich auf und waren auf die äußeren Blätter beschränkt. Das deutlichste Anzeichen der Infektion bestand in diesen Fällen in den oben beschriebenen Anomalien an den inneren, sich neu ausbildenden Blättern. Alle infizierten Pflanzen blieben im Wachstum stark zurück, und das Schossen war verzögert.

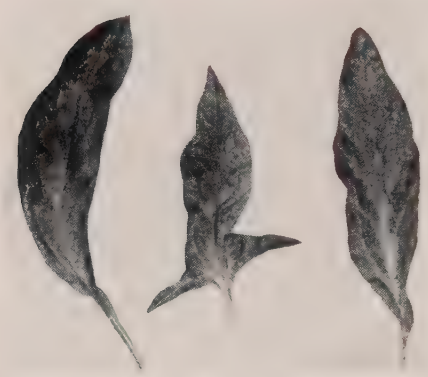


Abb. 7. *Spinacia oleracea* L., Sorte Matador; Blätter einer infizierten Pflanze; infiziert: 5. 7. 1954; photographiert: 11. 8. 1954

Vicia faba L. *minor*, Sorte Dornburger:

4 bis 6 Tage nach der Inokulation bildeten sich auf den abgeriebenen Blättern 2 mm große, runde, schokoladenfarbene Lokalläsionen

Abb. 8. *Spinacia oleracea* L., Sorte Matador; links: Kontrolle; rechts: infiziert; infiziert: 25. 2. 1954; photographiert: 24. 3. 1954

aus (Abb. 9). Die Läsionen vergrößerten sich kaum, die abgeriebenen Blätter starben bald ab. Die Infektion wurde nicht systemisch und glich damit dem durch den *Commelina*-Stamm hervorgerufenen Krankheitsbild an diesem Wirt (Wellman, 1934).

Datura stramonium L.:

Smith (1937) führte *Datura stramonium* als einen Differentialwirt an, und auch ich fand, im Gegensatz zu Tjallingii (1951), deutlich erkennbare Unterschiede zwischen den verschiedenen Isolierungen, wenn auch für die einzelne Isolierung die Art der Symptomzeichnung variieren konnte.

Abb. 9. *Vicia faba* L. *minor*, Sorte Dornburger, abgeriebene Blätter; oben: Kontrolle; unten: Lokalläsionen durch GMV-Infektion; infiziert: 1. 6. 1955; photographiert: 9. 6. 1955

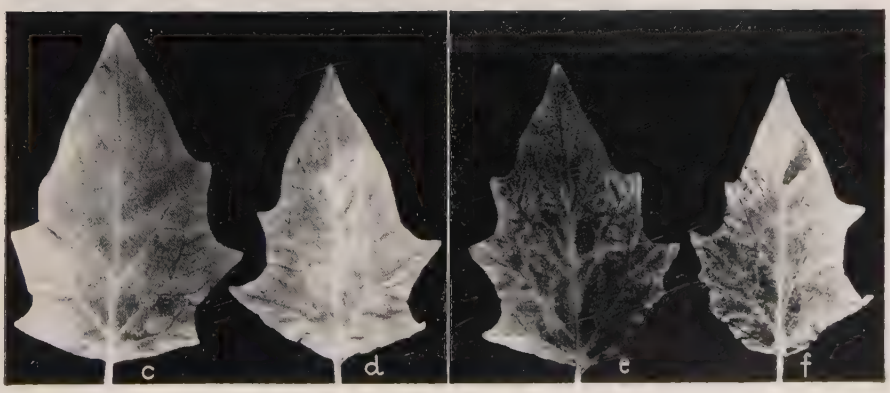


Abb. 10. *Datura stramonium* L., verschiedene Symptome, hervorgerufen durch einige Isolierungen des GMV von *Galinsoga quadriradiata* Ruiz et Pav.; a: Kontrolle; b: Standardisolierung; infiziert: 14. 4. 1954; photographiert: 11. 5. 1954; c bis f: Kontrollisolierungen; infiziert: 22. 4. 1955; photographiert: 24. 5. 1955

Tabelle 1

Untersuchungen zum Wirtspflanzenkreis der Gurkenmosaikvirus-Isolierungen

Testpflanzen	Infektionen*) Isolierung 32	29	31	42	43	Inkubationszeit Ø in Tagen	Beobachtungsdauer Ø in Tagen	Rückinfektion + = positiv — = negativ
Gramineae								
Zea mays L.	0/6	0/6	0/6				45	—
Chenopodiaceae								
Chenopodium quinoa L.	12/12	5/5	12/12	6/6	6/6	4	32	
Spinacia oleracea L., Sorte Matador	14/18	8/8	8/8	7/7	3/3	10	32	
Amarantaceae								
Amarantus retroflexus L.	12/16	9/15	10/16	7/10	1/5	11	40	+
Leguminosae								
Vicia faba L. *minor*, Sorte Dornburger	6/10	3/5	3/10	6/14	2/6	5	28	
Euphorbiaceae								
Mercurialis annua L.	5/5	5/5	3/5			9	25	
Umbelliferae								
Apium graveolens L., Sorte Magdeburger Markt	4/23					22	53	+
Polemoniaceae								
Phlox drummondii Hook.	8/10	5/5	4/5			17	46	+
Solanaceae								
Datura stramonium L.	16/18	6/8	12/12	8/8	4/4	11	49	
Nicotiana rustica L.	15/20	5/5	5/5			4	39	
Nicotiana langsdorffii Weinm.	5/15	4/5	3/5			12	62	
Nicotiana affinis Moore	8/25	3/5	1/5			8	54	
Nicotiana tabacum L., Sorte White Burley	5/5	4/5	1/5			9	56	
Nicotiana tabacum L., Sorte Virginia	3/5	5/5	4/5			7	72	
Nicotiana tabacum L., Sorte Samsun	8/10	10/10	10/10	9/10	4 6	7	30	
Nicotiana glutinosa L.	7/10	10/10	9/10	9/10	7 7	6	30	
Petunia hybrida Hort.	8/10	9/9	6/9	6/10	4 5	10	31	
Cucurbitaceae								
Cucumis sativus L., Sorte Delikatess	12/18	7/18	8/20	7/15	3/5	5	36	
Compositae								
Zinnia elegans L., Sorte Lilliput	10/19	6/11	6/9			12	63	+
Calendula arvensis L.	11/17					8	46	+
Lactuca sativa L., Sorte Gelber hohlblättriger Butter-Lattich	12/15	13/15	1/5			24	44	

*) Der Nenner bezeichnet die Zahl der inokulierten, der Zähler die der infizierten Testpflanzen.

Auf den abgeriebenen Blättern wurden nur durch eine der *Sonchus*-Isolierungen 5 Tage nach der Inokulation diffuse grün-gelbliche Flecke von ungefähr 1 mm Größe hervorgerufen. Durch dieses Virus wurden aber an den nachfolgenden Blättern Symptome verursacht, die als normale Reaktion auf Gurkenmosaikvirus-Infektion angesehen werden konnten. Es entwickelte

Abb. 11. *Datura stramonium* L., verschiedene Symptome, hervorgerufen durch einige *Galinsoga*-Isolierungen des GMV; infiziert: 22. 4. 1955; photographiert: 24. 5. 1955

sich an den Spitzenblättern ein diffuses, kleinfleckiges Mosaik, und auf den bereits voll entfalteten Blättern kam es zur Ausbildung deutlicher, dunkelgrüner, gezonter oder einfacher Kreise von 1 bis 4 mm (Abb. 10 c, 11 e). In einigen Fällen traten auch dunkelgrüne feine und gröbere Linien auf, die bogenförmig den Adern folgten, einfach verlaufen konnten (Abb. 10 b) oder auch gezont, abwechselnd mit hellen Linien gleicher Breite (Abbildung 10 d, e). Zwei *Galinsoga*-Isolierungen riefen nur eine diffuse Scheckung an den Spitzenblättern hervor, ohne klare Zeichnungen auszubilden, und die bereits voll entwickelten, nicht-abgeriebenen Blätter wiesen dann eine Adernbänderung auf (Abb. 11 a, b).

Drei von *Galinsoga* erhaltene Isolierungen verursachten an den Spitzenblättern neben Adernbänderungen, Adernaufhellungen und einer diffusen, kleinfleckigen Gelb-grün-Scheckung die Ausbildung scharf abgesetzter kleiner Kreise unterschiedlicher Größe. Sie waren deutlich gezont und im Gegensatz zu den oben beschriebenen Symptomen gelb gefärbt, wie es auch Roland (1955) für seine Dahlienisolierung beschreibt (Abb. 11 g, h). Derartige Pflanzen waren stärker wuchsbeeinträchtigt als solche mit schwächeren Symptomen. Nicht in jedem Falle gleiche Isolierungen, die für die

Abweichung in der Symptomausprägung auf *Datura* verantwortlich waren, riefen die Abweichungen an Samsun-Tabak und *Petunia hybrida* hervor, die weiter unten beschrieben werden sollen. Für alle an *Datura stramonium* beobachteten, durch die verschiedenen Isolierungen hervorgerufenen Symptome ließen sich bei Durchsicht der Literatur analoge Beschreibungen finden und die Zuordnung zum Gurkenmosaikvirus aufrecht erhalten (AINSWORTH, 1935; BHARGAVA, 1951; NOORDAM, 1952).

Nicotiana tabacum L., Sorte Samsun:

Nur gelegentlich waren nach Inokulationen Symptome auf den abgeriebenen Blättern in der Form fahler, hellgrüner bis gelber, diffuser Flecke sichtbar. Diese Flecke konnten von zarten, hellen Strichelnekrosen umzogen sein. Zumeist war das erste Anzeichen einer Infektion eine diffuse Adernaufhellung an den jüngsten, sich eben entfaltenden Blättern. Sie wurden häufig nach einiger Zeit begrenzt durch kleine, weißliche, nekrotische Strichel, die in etwa 1/2 bis 1 cm Entfernung in einer oder mehreren Linien den Adern folgten. Durch eine gleichmäßige oder auch fleckige Aufhellung des gesamten übrigen Gewebes konnte die Adernaufhellung sich zu einer Adernbänderung, etwa im Verlauf der dritten Woche nach der Inokulation, umbilden. Die neu sich entfaltenden Blätter wiesen eine mehr oder weniger feinfleckige, diffuse Scheckung auf. Etwa 4 Wochen nach der Abreibung waren diese Blätter zumeist etwas verschmälert und die Adernbänderung an den voll ausgewachsenen Blättern war dann wieder zu einer fahlgelblichen, diffusen Adernaufhellung geworden, die diesen Blättern ein deutlich genetztes Aussehen gab. Geringfügige Abweichungen bestanden für einzelne Isolierungen in der Ausbildung einer schmalen, dunkelgrünen Einsäumung der aufgehellten Adernpartien und fleckiger, dunkelgerandeter Aufhellungen in den Interkostalfeldern. Eine *Galinsoga*-Isolierung verursachte die Ausbildung von größeren und kleineren, mehrfach gezonten Ringen an bereits voll ausgebildeten Blättern. Bei einer Isolierung von *Datura stramonium* waren solche Ringe von nekrotischen Stricheln umgeben. Auf eine andere *Galinsoga*-Isolierung reagierten die Testpflanzen mit der Ausbildung heller, etwa 1 mm breiter Bänder, die in Schlängellinien die Interkostalfelder ausfüllten. Diese letzte Isolierung verursachte an einigen Pflanzen etwa 14 Tage nach der Inokulation auch Ringbildung, wobei die Ringe einfach oder auch gezont sein konnten und etwa 3 mm im Durchmesser groß waren. Ungefähr 4 Wochen nach der Infektion zeigten die Testpflanzen aller Reihen zumeist die gleichen, ausgesprochen schwachen Symptome, die oben bereits kurz beschrieben wurden. Auch an diesem Wirt spricht keines der beobachteten Symptombilder gegen eine Einordnung der Isolierungen in die Gruppe des Gurkenmosaikvirus.

Nicotiana glutinosa L.:

Diese Testpflanze reagierte nach Infektion mit allen hier besprochenen Isolierungen ähnlich. Auch bei *Nicotiana glutinosa* kam es nur gelegentlich, und anscheinend saisonabhängig, zur Ausbildung fahler, gelbgrüner, rund-

licher, manchmal konzentrisch gezeichneter Flecke auf den abgeriebenen Blättern etwa 4 bis 5 Tage nach der Inokulation. Die systemische Infektion zeigte sich an den Spitzenblättern etwa 6 bis 7 Tage nach der Abreibung als diffuse Adernaufhellung. Die Einwanderung des Virus in bereits voll ausgebildete Blätter verursachte eine hellgrüne, später sich gelb bis gelbbraun färbende, eichenblattähnliche Zeichnung. Häufig war sie von Nekrosen umgrenzt. Infizierte Pflanzen waren gegenüber gesunden Vergleichspflanzen in ihrem Wachstum stark beeinträchtigt. Die sich neu ausbildenden Blätter

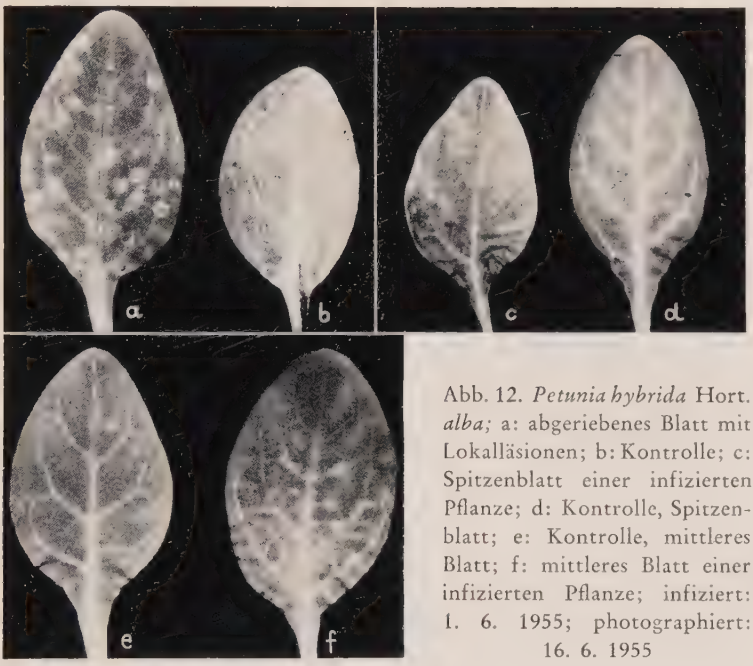


Abb. 12. *Petunia hybrida* Hort. *alba;* a: abgeriebenes Blatt mit Lokalläsionen; b: Kontrolle; c: Spitzenblatt einer infizierten Pflanze; d: Kontrolle, Spitzenblatt; e: Kontrolle, mittleres Blatt; f: mittleres Blatt einer infizierten Pflanze; infiziert: 1. 6. 1955; photographiert: 16. 6. 1955

blieben erheblich kleiner und wiesen eine ausgesprochene Mosaikscheckung, starke Verkrümmungen, blasige Aufbeulungen der dunkelgrünen Teile der Blattspreiten und erhebliche Formveränderungen auf (Abb. 14). Das Symptombild entspricht insgesamt dem von Smith (1937) und dem von Roland (1948) abgebildeten.

Petunia hybrida Hort. *alba:*

Die Isolierungen 31, 42 und 43 und drei Isolierungen von *Galinsoga quadriradiata* riefen auf den abgeriebenen Blättern die Bildung von hellen, kompakten Flecken oder auch klar gezeichneten Ringflecken von 3 bis 4 mm im Durchmesser hervor (Abb. 12 a). Die systemische Infektion äußerte sich für alle Isolierungen zunächst in einer diffusen Adernaufhellung, die 10 bis 12 Tage nach der Inokulation an den Spitzenblättern sichtbar wurde. Sie wich nach kurzer Zeit einer mehr oder weniger gelben Mosaikscheckung

(Abb. 12 c), während an den bereits voll ausgewachsenen Blättern zumeist eine Adernbänderung, manchmal aber auch eine Adernaufhellung auftrat, die häufig von zarten Strichelnekrosen begrenzt wurden (Abb. 12 f). Alle Blätter der infizierten Pflanzen zeigten als Folge der Infektion eine schwache Verbiegung und leichte Wellungen der Blattränder. Zwei *Galinsoga*-Isolierungen bewirkten an Folgeblättern die Ausbildung einfacher heller Ringe unterschiedlicher Größe.

Abb. 13. *Cucumis sativus* L., Sorte Delikatess; links: Kontrolle; rechts: Läsionen an den Kotyledonen und deutliches Mosaik am Laubblatt; infiziert: 21. 6. 1954; photographiert: 30. 6. 1954

Cucumis sativus L., Sorte Delikateß:

Die Infektionen von Gurken erfolgten immer durch Abreiben der Kotyledonen bei noch nicht entfaltetem ersten Laubblatt. Die an den Kotyledonen entstehenden Läsionen waren zuerst an ihrer Unterseite sichtbar als weißlich-grüne, etwas eingesunken erscheinende Flecke von 3 bis 4 mm Durchmesser, die von einem schmalen, weißlichen, etwas erhöhten Ring umgeben waren. 1 bis 2 Tage später waren die Läsionen auch oberseits zu erkennen als hellgrüne, zuerst sehr diffuse, später sich deutlicher abgrenzende, allmählich gelb bis weißlich werdende Flecke oder Ringe von gleicher Größe. Zur selben Zeit traten zumeist die ersten systemischen Symptome an dem sich inzwischen entfaltenden ersten Laubblatt auf als vereinzelte, kleine, gelblich-grüne, diffuse Ringflecke von 1 bis 1½ mm Größe. Mit zunehmender Dichte der Ringflecke und einer starken, doch ungleichmäßigen Adernaufhellung entstand 10 bis 11 Tage nach der Inokulation ein ausgesprochenes Mosaik, das auch auf alle folgenden Blätter überging (Abb. 13). Es verursachte mehr oder weniger schwere Verbeulungen aller Laubblätter. Alle infizierten Pflanzen waren stark gestaucht.

Zinnia elegans L., Sorte Lilliput:

Auf alle Isolierungen reagierten Zinnien mit systemischer Infektion. Die Symptome waren in allen Fällen sehr schwach. Sie bestanden zunächst in einer diffusen Adernaufhellung, später in einer diffusen, wenig deutlichen Scheckung, die vor allem am Blattgrund der jüngeren Blätter sichtbar wurde und eine leichte Wellung und schwache Verschmälerung aller Blätter verursachte.

3. Möglichkeiten der Übertragung

a) Mechanische Übertragung

Die mechanische Übertragung aller Isolierungen gelang leicht, wenn auch nicht immer zu gleich hohen Prozentsätzen. Der Infektionserfolg scheint wesentlich abhängig von der Temperatur zu sein (s. auch Kassanis, 1952). Im Sommer bei hohen Außentemperaturen (25 ° C und mehr) gelangen Infektionen nur schlecht, während sie im Herbst, Winter und Frühjahr nahezu 100%ig, vor allem auf Tabakarten, erzielt werden konnten. Den Erfahrungen von Tjallingii (1951) folgend, wurden deshalb bei Raumtemperaturen über 22 ° C die abgeriebenen Pflanzen für 12 bis 24 Stunden in kühleren Räumen aufgestellt. — Die Inkubationszeiten für die einzelnen Isolierungen unterschieden sich nicht. Ihre Dauer war abhängig von der Jahreszeit und der verwendeten Testpflanze und ist als Mittel aller Versuchsreihen in Tabelle 20 angegeben.

b) Übertragung mit Hilfe von *Cuscuta campestris* Yunck.

In für jede Isolierung nur einmal durchgeführten Versuchen (nur für die *Galinsoga*-Standardisolierung mehrmals), wurde das Virus durch *Cuscuta campestris* Yunck. verhältnismäßig leicht übertragen. Sproßstücke nichtinfizierter Seide wurden um 3 bis 4 Wochen vorher infizierte *Nicotiana glutinosa* geschlungen und nach der Ausbildung von Haustorien und der Entwicklung genügend langer neuer Sprosse (nach 7 bis mehr als 20 Tagen) wurden diese übergezogen auf 4 bis 5 gesunde Testpflanzen. Bis zum Sichtbarwerden der Symptome auf den Testpflanzen konnten 12 bis 20 Tage verstreichen. Durch Rückteste auf Samsun-Tabak oder *Datura stramonium* wurde die etwaige Filterwirkung der Seide überprüft. Alle Isolierungen, auch die Kontrollisolierungen, waren auf diese Weise übertragbar und riefen die für sie typischen Symptome bei der Rückübertragung hervor. Der Übertragbarkeit der Viren durch Seide wurde größere Bedeutung zugemessen, da Schmelzer (1956) die relativ leichte und häufig 100%ige Übertragung des Gurkenmosaikvirus mit Hilfe der Seide unterstreicht. Neben den physikalischen Eigenschaften und den verursachten Symptomen an *Spinacia oleracea, Vicia faba, Nicotiana*-Arten, *Petunia hybrida* und *Cucumis sativus* wurde deshalb die positiv verlaufene Seideübertragung als ausschlaggebendes Kriterium für die Einordnung dieser Gruppe der Isolierungen gewertet.

c) Insektenübertragung

Für die Teste zur Insektenübertragung wurde nur die Standardisolierung, d. h. die erste Isolierung von *Galinsoga parviflora* verwendet. Es kam mir in diesen Untersuchungen nicht darauf an, die Art und Weise der Übertragung genau festzustellen. Es sollte lediglich der Nachweis der Insektenübertragbarkeit überhaupt geführt werden und der Möglichkeit der Übertragung nach relativ kurzen Infektionssaugzeiten.

Tabelle 2

Übertragung der Isolierung von *Galinsoga parviflora* durch Blattläuse

Vektor	Infektionsquelle	Testpflanze	Infektionssaugzeit	Testsaugzeit	Anzahl Läuse pro Pflanze	Infektionen*)	Dauer der Beobachtung in Tagen
Myzus persicae Sulz.	*Nicotiana tabacum* L., Sorte Samsun	*Nicotiana tabacum* L., Sorte Samsun	20 h	72 h	30	0/10	66
	Spinacia oleracea L.	*Spinacia oleracea* L.	24 h	14 Tage	10	2/2	19
	Nicotiana glutinosa L.	*Nicotiana glutinosa* L.	24 h	72 h	10	0/2	67
	Spinacia oleracea L.	*Spinacia oleracea* L.	1 h	14 Tage	10	4/10	31
			4 h	14 Tage	10	5/10	31
			8 h	14 Tage	10	4/10	31
			10 min	4 h	10	5/10	27
			10 min	24 h	10	4/10	27
			10 min	48 h	10	2/10	27
			10 min	72 h	10	4/10	27
		Nicotiana tabacum L., Sorte Virginia	30 min	2 h	20	2/7	30
Neomyzus circumflexus Buckt.	*Spinacia oleracea* L.	*Spinacia oleracea* L.	24 h	14 Tage	10	1/8	41
		Nicotiana tabacum L., Sorte Virginia	30 min	2 h	20	0/8	30

*) Der Nenner bezeichnet die Zahl der verwendeten, der Zähler die der infizierten Testpflanzen.

HEINZE (1952) gibt eine große Zahl von „Normal-" und „Gelegenheitsüberträgern" für das Gurkenmosaikvirus an. Unter ihnen sind *Myzus persicae* Sulz. und *Neomyzus circumflexus* Buckt., mit denen eine Übertragung des *Galinsoga*-Virus versucht wurde, als Normalüberträger genannt. Wie die Tabelle 2 ausweist, konnte *Myzus persicae* das Virus verhältnismäßig leicht von Spinat zu Spinat übertragen. Nach einer Fasten-

zeit von 2 Stunden, einer Virusaufnahme von 10 Minuten und einer Testsaugzeit von 4 Stunden wurden 5 von 10 Spinatpflanzen infiziert, wobei die typischen Symptome hervorgerufen wurden. *Neomyzus circumflexus*, die nur in zwei Testen Verwendung fanden, übertrugen nach 24 Stunden Infektionssaugzeit und 14 Tagen Testsaugdauer das Virus nur auf eine von acht Spinatpflanzen. Kürzere Infektions- und Testsaugzeiten wurden mit dieser Art nicht geprüft.

Wesentlich schwieriger war die Übertragung des Virus von Tabak zu Tabak, obwohl für das Ansetzen der Läuse nach Möglichkeit die ersten, weniger behaarten Blätter der Pflanzen benutzt wurden. Die Läuse starben regelmäßig nach spätestens 3 Tagen ab. Die Übertragung gelang auf Virginia-Tabak bei einem nur 30 Minuten währenden Infektions- und auf 2 Stunden bemessenen Testsaugen.

Doolittle und Walker (1928) übertrugen das Virus mit *Doralina gossypii* Glov. (= *Aphis gossypii* Glov.) nach je 5 Minuten Infektions- und Testsaugzeit. Hoggan (1933 b) gelang die Übertragung mit *Myzus persicae* bei 5 bzw. 15 Minuten währendem Saugen auf den infizierten Pflanzen bzw. den Testpflanzen, Noordam (1952) nach 2 Minuten Infektions- und 5 bis 120stündigem Testsaugen.

Die Frage des Übertragungsmodus wurde mit diesem Virus nicht weiter verfolgt, da die übrigen Kriterien die Identität mit dem Gurkenmosaikvirus überzeugend bewiesen.

d) Samenübertragung

Die Übertragung des Gurkenmosaikvirus mit dem Samen ist bis jetzt nur von einigen Wirtspflanzen bekannt. Doolittle und Walker (1925) stellten die Möglichkeit der Samenübertragung bei *Micrampelis lobata* Greene fest und Bewley und Corbett (1930) machen dies wahrscheinlich für Samen von Treibhausgurken. Nach Chamberlain (1939, 1948) übertragen Samen von *Cucumis melo* L. und *Cyphomandra betacea* Sendtn. das Virus. Szirmai (1948) konnte Samenübertragung bei *Capsicum annuum* L. zu 16 bis 18 % feststellen. Wäre das Virus durch den Samen weiterer Pflanzenarten übertragbar, dann käme zu der großen Zahl seiner Überwinterungsmöglichkeiten noch ein bedeutender Faktor hinzu, zumal, wenn es sich in diesem Fall um Unkräuter handelte, die in der Regel sehr große Samenmengen produzieren, deren Verbreitung über weite Strecken möglich ist. Für die hier beschriebenen Untersuchungen erfolgte die Prüfung auf Samenübertragung nur für die Ausgangspflanzen der Isolierungen 32, 29 und 31. Um die sehr hartschaligen *Mercurialis*-Samen (Korsmo, 1930) in höheren Prozentsätzen zum Keimen zu bringen, wurden sie 1 Stunde der Einwirkung konzentrierter Schwefelsäure ausgesetzt (Hiltner und Kinzel, 1906), danach gründlich gewaschen und nach Übertrocknung ausgesät. In der Petrischale keimten von derart behandelten Samen 28 % gegenüber 1 bis 2 % nach 24stündigem Quellen in aqua dest. und 10tägigem Aufstellen bei Minus-Temperaturen. Nach vorsichtigem Anstechen der Samenschale mit einer feinen Nadel lagen die Keimprozentsätze ebenfalls bei 28 %. Bei der

Aussaat von *Galinsoga*- und *Sonchus*-Saatgut ergaben sich keine Schwierigkeiten. — Aus Samen infizierter

Galinsoga quadriradiata wurden	268, von
Mercurialis annua	206 und von
Sonchus oleraceus	106

gesunde Pflanzen erzogen. Rückteste von einzelnen *Galinsoga*- oder *Sonchus*-Pflanzen, die auf Grund kleiner Abweichungen als virusinfiziert hätten angesehen werden können, verliefen ergebnislos. Für die ersten beiden der oben angeführten Pflanzenarten konnten damit die Ergebnisse von TJALLINGII (1951) bestätigt werden, der für *Galinsoga parviflora* und *Mercurialis annua* eine Übertragung des Gurkenmosaikvirus über den Samen nicht feststellen konnte.

4. Eigenschaften des Virus

Für die Feststellung der Eigenschaften des Virus im Preßsaft wurde, wie bereits erwähnt, nur die erste Isolierung von *Galinsoga quadriradiata* verwendet. Preßsaft wurde in jeder dieser Reihen aus 3 bis 4 Wochen vorher infizierten *Nicotiana glutinosa* hergestellt. Diese Pflanzenart diente in den im nachfolgenden zusammengefaßten Untersuchungen auch als Testpflanze. Die bei der Durchführung der Versuche angewandte Methodik war die gleiche wie sie für das Luzernemosaikvirus angegeben wurde.

a) Thermale Inaktivierung

Der Grenzpunkt der thermalen Inaktivierung scheint für einzelne Stämme oder Isolierungen des Gurkenmosaikvirus sehr unterschiedlich zu liegen. KÖHLER und KLINKOWSKI (1954) geben in einer Zusammenstellung Schwankungsbereiche bis zu 10 ° C für eine Isolierung bzw. einen Stamm an, und für die bisher untersuchten insgesamt werden Inaktivierungstemperaturen angeführt, die zwischen 60 und 80 ° C liegen

Tabelle 3

Feststellung der thermalen Inaktivierung
(Summe aus drei Versuchsreihen)

°C/10 Min.	Zahl der Testpflanzen	Zahl der infizierten Pflanzen Isolierung 32
Kontrolle	15	13
60	30	6
62	30	10
64	30	3
66	30	1
68	30	0
70	30	0

Wie die Tabelle 3 zeigt, liegt der Grenzpunkt der thermalen Inaktivierung für die *Galinsoga*-Isolierung des Gurkenmosaikvirus zwischen 66 und 68 ° C. In einem Tastversuch konnte die *Mercurialis*-Isolierung noch eine von 30 Testpflanzen nach einem Erhitzen auf 68 ° C infizieren. Dies stimmt etwa mit den Ergebnissen von Bhargava (1951) überein, der für drei nebeneinander geprüfte Stämme den thermalen Tötungspunkt zwischen 65 und 70 ° C liegend fand.

b) Grenzpunkt der Verdünnung

Nach Köhler und Klinkowski (1954) liegt die Verdünnungsgrenze des Gurkenmosaikvirus zwischen 1 : 1000 und 1 : 100 000, kann also ebenfalls in einem sehr weiten Bereich schwanken. Die Ergebnisse der Teste mit der Isolierung 32 zeigt die Tabelle 4.

Tabelle 4

Grenzpunkt der Verdünnung

(Summe aus drei Versuchsreihen)

Verdünnungsgrad	Zahl der Testpflanzen	Zahl der infizierten Pflanzen Isolierung 32
1: 1	16	15
1: 10	25	18
1: 100	35	28
1: 1000	45	10
1: 10000	60	0

Der Endpunkt der Verdünnung liegt danach zwischen 1 : 1000 und 1 : 10 000, was den Angaben von Chamberlain (1939), Bhargava (1951) und Tjallingii (1951) entspricht.

c) Lebensbeständigkeit in vitro

Wie die Tabelle 5 angibt, bleibt das Virus, aufbewahrt bei Zimmertemperatur (19 bis 22 ° C), im Preßsaft länger als 4 Tage infektiös. Das gilt für die *Galinsoga*-Isolierung und für die von *Mercurialis*, durch die in einem nur einmal durchgeführten Test nach 96 Stunden Alterung noch 10 von 30 Pflanzen infiziert wurden. Bei Minustemperaturen aufbewahrt hatte das Virus der *Galinsoga*-Isolierung nach 100 Tagen noch einen erheblichen Teil seiner Aktivität bewahrt. Die Temperaturen, bei denen die Aufbewahrung in diesen letzten Untersuchungen erfolgte, können exakt nicht angegeben werden, da sie innerhalb der langen Aufbewahrungszeit in einem Bereich von — 1 ° bis — 14 ° C wechselten.

Die für die Inaktivierung bei Zimmertemperatur und bei Minustemperaturen gefundenen Ergebnisse stimmen überein mit dem größten Teil der in

der Literatur zu findenden Angaben (SMITH, 1937; CHAMBERLAIN, 1939; HOLMES, 1948; POUND und WALKER, 1948).

Tabelle 5

Inaktivierung in vitro

(Summe aus drei bzw. aus zwei Versuchsreihen)

Alterung in Stunden	Zimmertemperatur		Alterung in Tagen	Minus-Temperatur	
	Zahl der Test-pflanzen	Zahl der infizierten Pflanzen		Zahl der Test-pflanzen	Zahl der infizierten Pflanzen
1/2	5	4	0	3	3
55	30	28	10	10	10
72	30	3	20	15	15
96	30	1	40	20	20
120	30	0	80	20	18
144	30	0	100	20	5

Nach TJALLINGII (1951) hat OORT das Gurkenmosaikvirus in einem Extrakt aus Lupinen über fünf Monate, also etwa zwei Monate länger als in dem in Tabelle 5 angeführte Test, bei einer Temperatur von ungefähr 0 ° C aufbewahrt. Es war danach noch deutlich infektiös.

d) Inaktivierung des Virus durch Trocknung der infizierten Pflanze

Die Inaktivierung des Virus bei Trocknung (18 bis 22 ° C) der infizierten Pflanze wurde in nur einer Versuchsreihe festgestellt (Tabelle 6). Nach ihren Ergebnissen bleibt das Virus länger als 50 Tage infektiös. In einem für die *Mercurialis*-Isolierung durchgeführten Test waren nach 15 Tagen Trocknung Infektionen nicht mehr zu erzielen.

Tabelle 6

Inaktivierung durch Trocknung der infizierten Pflanze

Dauer der Trocknung in Tagen	Zahl der Testpflanzen	Zahl der infizierten Pflanzen Isolierung 32
0	5	5
30	10	7
50	20	5
70	30	0

Nach DOOLITTLE (1920) und SMITH (1937) verliert das Virus in getrocknetem Gewebe sehr schnell seine Infektiosität.

Tjallingii (1951) fand eine merkliche Herabsetzung der Aktivität bei Trocknung im Thermostaten (25 ° C) schon nach drei Tagen, nach sieben Tagen konnte er keine Infektionen mehr erzielen. Er trocknete infizierte *Cucumis sativus* L. als Infektionsmaterial und hat die gleiche Pflanzenart offensichtlich auch als Testpflanze verwendet. Unterschiedliche Ergebnisse bei Testen zur Feststellung der physikalischen Eigenschaften führt Bhargava (1951) auf die Verwendung verschiedener Testpflanzenarten zurück. Auch die Art der Infektionsquelle, die Viruskonzentration und Stammunterschiede können nach Meinung dieses Autors Differenzen bewirken. Ein Versuchsfehler kann für die oben angeführten Ergebnisse nicht angenommen werden, da auch nach 30 Tagen noch ein relativ großer Teil der Testpflanzen infiziert wurde. Nach Rainio (1941) hält sich das Virus in getrockneten Pflanzenteilen im Gewächshaus wie im Freien ein Jahr und länger.

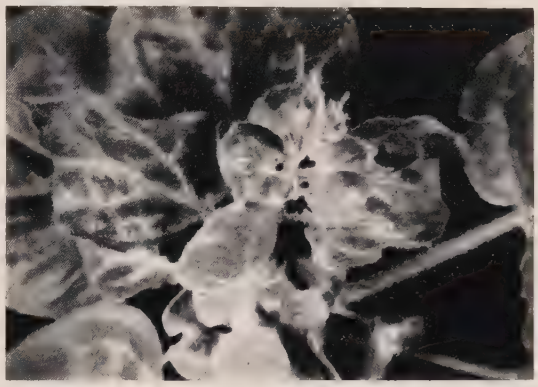


Abb. 14. *Nicotiana glutinosa* L., Grünstamm des GMV (*Galinsoga*-Isolierung); infiziert: 16. 10. 1954; photographiert: 25. 11. 1954

5. Prämunität

Abb. 15. *Nicotiana glutinosa* L., Gelbstamm des GMV; infiziert: 26. 10. 1954; photographiert: 25. 11. 1954

Die Isolierungen 32 und 31 wurden je einmal unter Verwendung von *Nicotiana tabacum*, Sorte Samsun, und je zweimal mit *N. glutinosa* als Testpflanzen auf ihre prämunisierenden Eigenschaften gegenüber einem Gelbstamm des Gurkenmosaikvirus geprüft. Die übrigen Isolierungen einschließlich aller Kontrollisolierungen wurden an jeder der Tabakarten nur einmal in gleicher Weise getestet. Die Infektion mit diesem Gelbstamm führte zu schwereren Blattdeformationen und zu wesentlich stärkeren Vergilbungen als die mit den Grünstämmen des GMV (Abb. 14, 15). Die Vermehrung des Gelbstammes war bei Mischinfektion deshalb gut erkennbar. In den Testen kamen je-

weils 15 Pflanzen zur Verwendung. Zehn von ihnen wurden mit einer der Isolierungen abgerieben, und zehn bis zwölf Tage nach der ersten Inokulation bei *Nicotiana glutinosa,* nach 16 bis 18 Tagen bei Samsun-Tabak erfolgte die zusätzliche Infektion auf fünf dieser Pflanzen mit dem Gelbstamm. Fünf Pflanzen jeder Reihe, allein mit dem Gelbstamm infiziert, dienten als Kontrollen. In diesen Versuchsreihen wurden Mischinfektionen nicht festgestellt. Der Schutz, den die einzelnen Isolierungen *Nicotiana glutinosa* gegenüber einer Infektion mit dem Gelbstamm gaben, muß als vollständig angesehen werden.

Die Einwanderung und Ausbreitung des Virus in Blättern von *Nicotiana tabacum,* Sorte Samsun, ist weniger leicht zu erkennen und zu verfolgen als bei *N. glutinosa.* Die vollständige Virusdurchdringung der zur zweiten Inokulation ausgewählten Blätter ist nicht immer mit Sicherheit festzustellen. Auf unvollständige Durchdringung ist es deshalb wahrscheinlich auch zurückzuführen, daß in den Prämunitätstesten mit zwei Kontrollisolierungen der Isolierung 32, an je einer Pflanze von 5, Mischsymptome am Neuzuwachs bzw. an den Spitzenblättern auftraten. Die angeführte Deutung der teilweisen Durchbrechung der Schutzwirkung ist wahrscheinlich, da in den erwähnten Reihen immer nur in einer Pflanze die Vermehrung des Gelbstammes erfolgte, während die Kontrollpflanzen 100%ig mit dem Gelbstamm infiziert waren und weil in *Nicotiana glutinosa* bei sorgfältiger Auswahl der abzureibenden Blätter der Schutz vollständig war. Auch BRIDGMON und WALKER (1952) und NOORDAM (1952) erhielten in den von ihnen durchgeführten Kreuzinokulationen nicht immer einen vollständigen Schutz.

6. Systematische Zugehörigkeit der Isolierungen

Die Einordnung der im vorstehenden beschriebenen Isolierungen in die Gruppe des Gurkenmosaikvirus erscheint gesichert auf Grund der festgestellten Eigenschaften des Virus im Preßsaft, der Übertragungsweise, der Wirtspflanzenkreise und der sehr typisch ausgebildeten Symptome an einzelnen Wirten.

Schwieriger ist die Entscheidung darüber, ob die hier untersuchten Isolierungen dem typischen Stamm gleichen oder einem oder mehreren der sehr zahlreich in der Literatur erwähnten Stämme dieses Virus zuzurechnen sind. JOHNSON (zit. bei SMITH, 1937) unterschied 12 Gurkenmosaikvirusstämme. HOLMES (1948) beschreibt neben dem typischen 5 Stämme. FULTON (1950) las aus 26 Spinatisolierungen 6 aus, die sich bezüglich der Symptome und der Wirtspflanzenkreise unterschieden. FAAN und JOHNSON (1951 a) haben aus 360 Isolierungen 5 echte, neue Stämme abgetrennt und sehen außerdem 9 schon früher beschriebene als gültig an. Sie erwähnen (1951 b), daß bis jetzt mehr als 30 Stämme festgestellt wurden, die aber nach Meinung der Autoren häufig nur Isolierungen darstellen, d. h. keine so großen Unterschiede aufweisen, als daß eine Stammbezeichnung gerechtfertigt wäre.

Bei all diesen und anderen Stämmen treten keine klar sich abgrenzenden Unterschiede in den physikalischen Eigenschaften auf (s. auch WALKER,

1950). Ihre Unterscheidung beruht immer auf Verschiedenheiten in den Wirtspflanzenkreisen oder in den ausgebildeten Symptomen. Der Umfang der Wirtspflanzenkreise ist sortenabhängig und abhängig von der Methodik der Inokulation, die Symptome sind stark umweltbedingt in ihrer Ausprägung. Zudem sind auch in den Symptombeschreibungen die in der Literatur zu findenden Angaben und die Stammabgrenzungen nicht immer klar.

Die mit den hier vorliegenden Isolierungen des GMV durchgeführten Untersuchungen waren nicht so weit ausgedehnt worden, als daß sie einen umfassenden Vergleich mit allen in der Literatur angeführten Stämmen des Virus gestattet hätten. So weit das gesammelte Material zu einer Gegenüberstellung ausreicht, sind alle angeführten Isolierungen nicht einem der zahlreichen Stämme des GMV zuzurechnen, sondern dem typischen Stamm dieses Virus. Es bestehen z. B. nur sehr geringe Unterschiede zu dem von Smith (1937) sehr ausführlich dargestellten typischen Stamm. Die Symptome gleichen sich auf *Nicotiana*-Arten, *Lycopersicum esculentum, Datura stramonium, Cucumis sativus, Spinacia oleracea* u. a. Sie unterscheiden sich lediglich auf *Amarantus retroflexus,* auf denen von mir immer nur einige fahl-grüne bis weißliche, diffuse Flecke von 4 bis 5 mm Durchmesser auf den abgeriebenen Blättern aber keine Nekrosen und keine systemische Infektion, wie Smith sie beschreibt, beobachtet werden konnten. Ebenso verursachten von anderen Autoren beschriebene und von ihnen als typisches oder gewöhnliches GMV bezeichnete Stämme an den verschiedenen Wirtspflanzen ähnliche oder gleiche Symptome (Price, 1934; Wellman, 1934; Ainsworth, 1935; Roland, 1939; Fulton, 1950; Bhargava, 1951; Tjallingii, 1951; Bridgmon und Walker, 1952 u. a.). Ainsworth (1938) gibt an, daß alle von dikotylen Pflanzen stammenden GMV-Stämme dem typischen Stamm sehr ähneln.

Die vorstehend beschriebenen Isolierungen sind wahrscheinlich Isolierungen des typischen Stammes des Gurkenmosaikvirus, *Marmor cucumeris* H. var. *vulgare.*

Zusammenfassung

Das Gurkenmosaikvirus konnte in *Galinsoga quadriradiata* Ruiz et Pav., *G. parviflora* Cav., *Mercurialis annua* L., *Sonchus oleraceus* L., *Datura stramonium* L. und *Solanum nigrum* nachgewiesen werden. Es verursacht ein mehr oder weniger deutliches Mosaik, das bei den *Galinsoga*-Arten und *Mercurialis annua* von starken Blattkräuselungen und -beulungen begleitet ist. Als einjährige Arten können diese Unkräuter nur innerhalb der Vegetationsperiode für die Ausbreitung des Virus Bedeutung haben, und dann wahrscheinlich als Glieder der Infektkette Gartenpflanzen—Feldbestände. Die Identifizierung der einzelnen Isolierungen wird beschrieben. *Sonchus oleraceus* ist ein bisher nicht bekannter Wirt des Virus.

Literaturverzeichnis

AINSWORTH, G. C., 1935: Mosaic diseases of the cucumber. Ann. appl. biol. **22**, 55—67.

— —, 1938: A note on certain viruses of the cucumber virus 1 type isolated from monocotyledonous plants. Ann. appl. biol. **25**, 867—869.

BEWLEY, W. F., und W. CORBETT, 1930: The control of cucumber and tomato mosaic diseases in glasshouses by the use of clean seed. Ann. appl. biol. **17**, 260—266.

BHARGAVA, K. S., 1951: Some properties of four strains of cucumber mosaic virus. Ann. appl. biol. **38**, 377—388.

BRIDGMON, G. H., und J. C. WALKER, 1952: *Gladiolus* as a virus reservoir. Phytopathology **42**, 65—70.

CHAMBERLAIN, E. E., 1939: Cucumber mosaic (*Cucumis* virus 1 of SMITH, 1937). New Zealand j. sci. technol. **21**, 73 A—90 A.

— —, 1948: Virus diseases of tree tomato (*Cyphomandra betacea* Sendt.). 1. Cucumber mosaic (*Cucumis* virus 1 of SMITH, 1937). New Zealand j. sci. technol. A. **29**, 256—260.

DOOLITTLE, S. P., 1920: The mosaic disease of cucurbits. US dep. agric., Bull. 879.

— —, and M. N. WALKER, 1925: Further studies on the overwintering and dissemination of cucurbit mosaic. J. agric. res. **31**, 1—58.

— —, and — —, 1928: Aphis transmission of cucumber mosaic. Phytopathology **18**, 143.

FAAN, H. C. and J. JOHNSON, 1951 a: Strains of cucumber-mosaic virus. Phytopathology **41**, 11.

— —, and — —, 1951 b: The overwintering of the cucumber mosaic virus. Phytopathology **41**, 1001—1010.

FULTON, J. P., 1950: Studies on strains of cucumber virus 1 from spinach. Phytopathology **40**, 729—736.

GÄUMANN, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl., Birkhäuser, Basel.

HEIN, A., 1957: Beiträge zur Kenntnis der Viruskrankheiten an Unkräutern. II. Das Luzernemosaik- und das Lamium-Gelbmosaikvirus. Phytopath. Z. **29**, 79—116.

HEINZE, K., 1939: Übertragung und Überwinterung des Lupinenbräunevirus. Mitt. B. R. A., Heft 59, 84—86.

— —, 1952: Virusübertragungsversuche mit Blattläusen auf Dahlien, Gurken, Zwiebeln, Wasserrüben und einigen anderen Pflanzen. Z. Pflanzenkrkht. **59**, 3—13.

HERBERT, D. A., 1939: Plant viruses in Queensland I. Pap. dep. biol., Univ. Queensland 1, Nr. 11, 1—4.

HILTNER, L., und W. KINZEL, 1906: Über die Ursachen und die Beseitigung der Keimungshemmungen bei verschiedenen praktisch wichtigeren Samenarten. 2. Unquellbarkeit (Hartschaligkeit) der Leguminosensamen. Naturwiss. Z. Land- u. Forstw. **4**, 193 bis 204.

HOGGAN, I. A., 1933 a: Some viruses affecting spinach, and certain aspects of insect transmission. Phytopathology **23**, 446—474.

— —, 1933 b: Some factors involved in aphid transmission of the cucumber mosaic virus to tobacco. J. agric. res. **47**, 689—704.

HOLMES, F. O., 1948: The filterable viruses. Bergey's manual of determinative bacteriology. Suppl. No. 2, Baltimore, 6. Aufl., 1126—1286.

KASSANIS, B., 1952: Some effects of high temperature on the susceptibility of plants to infection with viruses. Ann. appl. biol. **39**, 358—369.

KÖHLER, E., 1935: Übertragungsversuche mit dem Virus der Lupinenbräune. Angew. Bot. **17**, 277—286.

— —, und M. KLINKOWSKI, 1954: Viruskrankheiten, in SORAUER, P., Handb. der Pflanzenkrankheiten. Paul Parey, Berlin, 2 Bd., 6. Aufl., 1. Lief.

Korsmo, E., 1930: Unkräuter im Ackerbau der Neuzeit. Julius Springer, Berlin.

Noordam, D., 1952: Virusziekten bij chrysanthen in Nederland. T. plantenziekten **58**, 121—189.

Pound, G. S., and J. C. Walker, 1948: Strains of cucumber mosaic virus pathogenic on crucifers. J. agr. res. **77**, 1—12.

Price, W. C., 1934: Isolation and study of some yellow strains of cucumber mosaic. Phytopathology **24**, 743—761.

*Rainio, A. J., 1941: Untersuchungen über *Cucumis* Virus 1. Erreger der Kräuselkrankheit auf Gurkenpflanzen. Staatl. landw. Versuchstätigkeit Nr. 109, Helsinki.

Richter, H., 1939: Viruskrankheiten der Lupine. Mitt. B. R. A., Heft 59, 73—84.

Roberts, D. A., E. Wilkinson, and A. F. Ross, 1951: *Chenopodium hybridum*, a local-lesion host for cucumber-mosaic virus. Phytopathology **41**, 31.

Roberts, D. A., R. E. Wilkinson, and A. F. Ross, 1951: *Chenopodium hybridum*, a local-ziekten **45**, 260—274.

— —, 1948: Les virus des taches bronzées de la tomate (*Lycopersicum* virus 3, Brittlebank) et de la mosaique du concombre (*Cucumis* virus 1, Doolittle) sur *Dahlia*. Parasitica **4**, 98—102.

— —, 1955: Contribution à l'étude du virus de la mosaique du concombre (*Cucumis* virus 1, Doolittle). Parasitica **11**, 3—9.

Schmelzer, K., 1956: Beiträge zur Kenntnis der Übertragbarkeit von Viren durch *Cuscuta*-Arten. Phytopath. Z. **28**, 1—56.

Smith, K. M., 1937: Textbook of plant virus diseases. J. and A. Churchill, Ltd. London.

Szirmai, J., 1948: Virus betegsegek terjedese a vetömag utjan. Mitt. Fak. Garten- und Weinbau Univ. Agrarwiss. Budapest **12**, 165—181.

Tjallingii, F., 1951: Onderzoekingen over de mozaiekziekte van de augurk (*Cucumis sativus* L.). Meded. inst. plantenziektenkundig onderzoek, Wageningen, Nr. 47.

Uschdraweit, H. A., 1954: Die Bedeutung der Stauden für die Virusverbreitung. Mitt. B. B. A., Heft 81, 25—33.

— —, 1955: *Chenopodium quinoa* als Testpflanze für das Gurkenmosaik. Nachr.-Bl. dtsch. Pflanzenschutzdienst (Braunschweig) **7**, 151—152.

Walker, J. C., 1950: Plant pathology. McGraw-Hill book comp., New York, 500—504.

Wellman, F. L., 1934: Identification of celery virus 1, the cause of southern celery mosaic. Phytopathology **24**, 695—725.

Die mit * versehene Literaturstelle wurde nur im Referat eingesehen.

Besprechungen

Garrett, S. D., Biology of Root-infecting Fungi. University Press, Cambridge 1956. 292 S. Preis gebunden 30 s.

Verfasser unterzieht sich der Aufgabe, ein recht umfangreiches und sich lebhaft entwickelndes Forschungsgebiet unter eingehender Berücksichtigung der vorhandenen Literatur zu einer Monographie zusammenzustellen. „Biology of Root-infecting Fungi" verspricht eine empfindliche Lücke in unserem Schrifttum zu schließen und gewinnt noch weiterhin an Bedeutung, als es aus der universellen Schau eines Autors geschrieben ist, der sich seit 25 Jahren eingehend mit dem Problem der „Fußkrankheiten" beschäftigt. Wie auch im Vorwort betont, ist der Komplex Fußkrankheiten—Wurzelschäden ursprünglich ein Spezialproblem der pflanzlichen Pathologie, heute ein eigener Wissenschaftszweig, der sich im Grenzgebiet zwischen Phytopathologie und Bodenmikrobiologie entfaltet. Es ist das besondere Verdienst Garretts, in seinen zahlreichen Arbeiten und schließlich in dem vorliegenden Werk durch einen engen Kontakt mit der Ökologie einen neuen Zugang zu den in Frage stehenden Problemen geschaffen zu haben.

Der in zwölf Kapitel gegliederte Inhalt des Buches ist so reich und mannigfaltig, daß er hier nur kurz angedeutet werden kann. Nach einem historischen Überblick und einleitender Problemstellung wird in einem besonderen Kapitel über die Bodenpilzflora auf die verschiedenen Betrachtungsweisen — autökologisch, synökologisch — eingegangen und eine Einbeziehung der Wurzelparasiten (root-infecting fungi) in ein auf Grund des saprophytischen und parasitischen Verhaltens auf synökologischer Ebene entwickeltes System der Bodenpilze diskutiert. In Abwandlung einer auf Waksman zurückgehenden Einteilung wird zwischen soil-inhabiting fungi — bodenbewohnende Pilze (echte Bodensaprophyten und unspezialisierte Parasiten) und root-inhabiting fungi — wurzelbewohnende Pilze (spezialisierte Parasiten und Mehrzahl der Mykorrhizapilze) unterschieden. Es werden dann die Begriffe root-disease fungi — Wurzelkrankheitserreger (unspezialisierte und spezialisierte Parasiten) und root-infecting fungi — Wurzelparasiten (Wurzelkrankheitserreger und Mehrzahl der Mykorrhizapilze) auseinandergelegt. Im folgenden wird zunächst auf die parasitische Entwicklung der Wurzelkrankheitserreger eingegangen. Aus den Ausführungen geht hervor, daß eine scharfe Trennung zwischen primitiven, fakultativen und obligaten Parasiten sich nicht durchführen läßt, sondern beide vielmehr durch intermediäre und Übergangstypen verschiedenen Grades miteinander verbunden sind. An Einzelheiten bringt dieser Abschnitt eine sehr interessante Studie über die gefäßparasitären Welkeerreger, die in der Sicht des Autors in ihrem pathogenen Status weit mehr Ähnlichkeit mit den pathogenen bodenbewohnenden Pilzen als mit den mehr spezialisierten Formen der „Wurzelbewohner" haben. Es folgt ein sehr interessanter Beitrag zu dem Problem Mykorrhizapilze. In einem besonderen Abschnitt wird die Bedeutung der epiphytischen und rhizosphaeren Mikroflora für das Zustandekommen von Wurzelinfektionen erörtert. Der weitere Inhalt behandelt mit großer Ausführlichkeit das saprophytische Verhalten der Wurzelkrankheitserreger (saprophytische Entwicklungszustände außerhalb des Wirtes, Perennieren im infizierten Wirtsgewebe, Dauerzustände). Sehr wertvoll sind die Ausführungen zur Epidemiologie der Wurzelkrankheiten, in denen zum Teil neuartige Gesichtspunkte und Vorstellungen enthalten sind. In dem Schlußkapitel werden die Bekämpfungsmöglichkeiten (Fruchtwechsel, Kultur- und sanitäre Maßnahmen, Bodendesinfektion, Bodendämpfung) und die speziellen Fragen, die in diesem Zusammenhang bei einzelnen Krankheitserregern und bestimmten Kulturpflanzen auftreten, diskutiert. Ein umfangreiches Literaturverzeichnis mit über 500 Angaben, ganz

besonders wertvoll für denjenigen, der einen rationellen Start zum Studium der Originalliteratur sucht, und ein Index schließen das Werk ab.

Der Wert eines Buches läßt sich mit verschiedenen Maßstäben messen. Auf einem Gebiete, das — wie das vorliegende — in vollem Fluß befindlich ist, wird man den neuen Anregungen, die der experimentell Arbeitende bei der Lektüre des Buches erhält, besondere Bedeutung beimessen. Nicht zuletzt unter diesem Gesichtspunkt kann die Anschaffung des Werkes wärmstens empfohlen werden. R. Schneider, Berlin-Dahlem

Ruhland, W., Handbuch der Pflanzenphysiologie. Band III: Pflanze und Wasser. Redigiert von O. Stocker. Springer-Verlag, Berlin—Göttingen—Heidelberg 1956. XXII + 1073 S., 488 Abb. Geb. DM 248,— (Subskriptionspreis: DM 198,40).

Der vorliegende Band befaßt sich vorwiegend mit dem Problem, „wie im Rahmen der Gesamtorganisation der Pflanze die Herstellung und die Aufrechterhaltung eines thermodynamisch ausreichenden Wasserzustandes gelingt und in welchen Abhängigkeiten und Beziehungen dieser Wasserhaushalt zu anderen physiologischen Vorgängen steht". Da in den beiden ersten Bänden des Handbuches sich mehrere Abschnitte eingehend mit den physikochemischen und zellphysiologischen Grundlagen des Wasserhaushaltes beschäftigen, werden diese Gebiete in den vorangestellten Kapiteln nur kurz zusammengefaßt. Es erhebt sich die Frage, ob dies — jedenfalls in der gebrachten Form — vor allem auch in Anbetracht der Preisgestaltung, überhaupt notwendig war. So behandelt zum Beispiel der Abschnitt „Osmosis and permeability" (Levitt) nur einige Fragen, und diese in so gedrängter Form, daß man für eine nähere Information doch auf die ersten beiden Bände zurückgreifen muß. Ausgezeichnet ist dagegen die klare Umreißung der Probleme und der historische Überblick in der Einführung (Stocker).

Der Stoff wird in fünf große Abschnitte gegliedert, von denen sich der erste mit der Wasseraufnahme und Wasserspeicherung befaßt. Von den wasserführenden Medien werden das Süßwasser (Ruttner), das Meerwasser (Kalle), das Wasser der Atmosphäre (Geiger) und des Bodens (Veihmeyer) vorwiegend nach physikalischen und chemischen Gesichtspunkten behandelt. Nur das letzte Kapitel berührt bereits ausgiebig auch physiologisch-ökologische Fragen. Den allgemein physiologischen Grundlagen der Wasseraufnahme ist aber noch eine besondere Darstellung von Kramer gewidmet. In der speziellen Behandlung der wasseraufnehmenden und wasserspeichernden Organe (Stocker, Stocking, Kramer, Gessner) ist die Trennung der thallösen Pflanzen und der Kormophyten sehr zu begrüßen, doch hätte die Abhandlung sicherlich an Geschlossenheit gewonnen, wenn sie aus einer Hand stammen würde. Dasselbe gilt auch unter anderem für die Darstellung der Anatomie und der Physiologie der Wurzel durch getrennte Autoren. Gerade auf diesem Gebiet sind Physiologie und Anatomie so eng gekoppelt, daß im physiologischen Abschnitt anatomische Fragen mitberücksichtigt werden müssen und sich Wiederholungen notgedrungen ergeben.

Die bewährte Trennung der thallösen Pflanzen und der Kormophyten wird auch in den beiden folgenden großen Abschnitten, die sich mit der Wasserabgabe und der Wasserleitung befassen, beibehalten, aber auch hier gilt die oben angeführte Einschränkung (getrennte Autoren). Morphologie, Anatomie und Transpiration des Blattes werden dagegen zum Vorteil der Straffheit und Geschlossenheit der Darstellung von einem Autor behandelt (Stålfelt). Dasselbe gilt für die Anatomie und die Physiologie der Gefäßleitung (Huber). Ein besonderes Kapitel ist der Wasserleitung in Parenchymen gewidmet (Hülsbruch). In dem anschließenden Abschnitt „Wasserzustand und Wasserbilanz" werden behandelt: Turgor und Festigung des Pflanzenkörpers (Ullrich), Bedeutung des Wassers für die Bewegungen der Pflanze (Straka); Wasserumsatz und Salzstoffwechsel (Kisser) sowie pflanzliche Produktion (Aslyng), um nur einiges aus dem Inhalt zu nennen. In diesem Abschnitt ist neben dem Kapitel „Dürreresistenz" (Stocker) für den Phytopathologen von besonderem Interesse die Abhandlung von Kern: Die Beeinflussung der Wasserbilanz durch Welkestoffe und Parasiten. Außer den Welkestoffen, die nach ihrer abdichtenden Wirkung auf die Zellwände (physikalisches Welken) und nach ihrer Giftwirkung

auf das Wirtsplasma (toxigenes Welken) getrennt besprochen werden, berücksichtigt der Verf. auch die Tracheomykosen.

Der letzte große Abschnitt ist dem Wasserhaushalt ökologischer Pflanzentypen gewidmet. Nach einer Übersicht über das Wasser als pflanzengeographischer Faktor (C. Troll) wird der Wasserhaushalt der Xerophyten (Killian und Lemée), der Meso- und Hygrophyten (Pisek), der Hydro- und Helophyten (Gessner), der Halophyten (Adriani) sowie der Epiphyten und Lianen (Gessner) behandelt. Den Phytopathologen wieder besonders ansprechend ist die Darstellung „Der Wasserhaushalt der Parasiten" (Härtel); es werden aber leider nur Kormophyten berücksichtigt. Aus dem Inhalt des ganzen Bandes geht hervor, daß wir — abgesehen von den Welkekrankheiten — doch noch recht wenig über die Beeinflussung des Wasserhaushaltes des Wirtes durch pathogene Mikroorganismen wissen.

Es liegt in der Natur der Sache, daß bei einer Besprechung die Punkte, die dem Ref. nicht ganz zusagen, zu stark betont werden, da man die zusagenden als selbstverständlich hinnimmt, so daß die Besprechung häufig doch ein nicht völlig zutreffendes Bild des ganzen Werkes wiedergibt. Darum sei ausdrücklich betont, daß man dem Herausgeber des Handbuches, W. Ruhland, und den Redakteuren der Einzelbände, im vorliegenden Fall O. Stocker, nicht genug Dank sagen kann für die viele Mühe und Arbeit, die sie sich gemacht haben, bis die hervorragende Leistung zustande gekommen ist und vor uns liegt. Die anzuerkennende Ausstattung durch den Verlag sei besonders hervorgehoben. Nur der Preis ist so gehalten, daß sich wohl kaum ein Privatmann das Werk leisten kann, deshalb sei eine Anregung aus den Kreisen jüngerer Kollegen an den Verlag weitergegeben, ob es sich nicht ermöglichen ließe, einzelne, abgeschlossene Kapitel aus den Bänden als käufliche Sonderdrucke herauszugeben. Gerade für die folgenden Bände spezielleren Inhalts ließe sich dies doch vielleicht ermöglichen.

H. Drawert, Berlin-Dahlem

Grundriß der Forstpathologie

Von Prof. Dr. F. SCHWERDTFEGER

1950. 210 Seiten mit 139 Abbildungen. In Ganzleinen DM 13,60

Der „Grundriß" vermittelt einen alles Wesentliche umfassenden Überblick über die Grundtatsachen der Waldkrankheitslehre. Insbesondere macht er mit den wirtschaftlich wichtigen Krankheiten und Schädigungen des Waldes, mit ihrer Entstehung, ihrem Verlauf und ihren Auswirkungen sowie den Möglichkeiten ihrer Verhütung und Bekämpfung eingehend bekannt. Die textliche Darstellung ist kurz und prägnant gefaßt und durch viele instruktive Abbildungen unterstützt. Wer sich rasch und gründlich über die einschlägigen Fragen orientieren will, wird dieses reich illustrierte Buch gern zur Hand nehmen.

„Das außerordentlich weitläufige und mit unendlich viel Einzeltatsachen belastete Gesamtgebiet des Forstschutzes ist hier in einer abgerundeten und umfassenden Darstellung sehr gewandt behandelt. Dank sehr klarer Begriffsbildung und eines meisterhaften Stils ist mit wenigen Zeilen jeweils das Wichtigste gesagt." Forstwissenschaftliches Centralblatt

„Noch deutlicher aber tritt die meisterhafte Behandlung des weiträumigen Stoffes in dem ‚Grundriß der Forstpathologie' hervor ..." Forst-Archiv

---

Literatur zur HCH- und Diën-Gruppe

Von Prof. Dr. R. RIEMSCHNEIDER
Chemisches Institut der Freien Universität Berlin

Liste III: 128 Seiten, kartoniert DM 25,—
Liste V: 56 Seiten, kartoniert DM 9,60

Diese Schriften enthalten das von dem Verfasser bis 31. Dezember 1951 registrierte Literaturmaterial über die Insektizide der HCH- und Diën-Gruppe. Die über 4000 Titel mit Angaben von Referenten sowie von Arbeitsschwerpunkten und behandelten Insektizid-Gruppen bedeuten für Wissenschaft und Praxis eine wichtige international zu wertende Unterstützung in ihrer vielseitigen Arbeit. Der größte Teil der Literaturangaben trägt einen Hinweis, ob der Schwerpunkt der Arbeit auf chemischem, physikalischem oder biologischem Gebiet zu suchen ist.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Anfang Februar erschien der Abschlußband von

PAREYS
LANDWIRTSCHAFTS-LEXIKON

7., völlig neubearbeitete Auflage

Unter Mitwirkung zahlreicher Mitarbeiter und in Gemeinschaft mit
Prof. Dr. E. KLAPP und Prof. Dr. F. HARING

herausgegeben von
Prof. Dr. L. W. RIES

Zwei Bände mit zusammen 805 Seiten und 500 Abbildungen

Preis für das komplette Werk: In Ganzleinen DM 96,— · Bei Teilzahlung DM 105,60

Die Bände sind nicht einzeln käuflich.

„Das Lexikon stellt dem Benutzer die Sachkenntnis von über 30 führenden Fachleuten zur Verfügung, die zum größten Teil maßgebend an der Erarbeitung der Fortschritte beteiligt gewesen sind, die Forschung und Praxis in den letzten Jahrzehnten erzielt haben ... Damit ist ein Nachschlagewerk geschaffen worden, das dem Praktiker in Betrieb, Schule, Beratung, Verwaltung und Organisation ebenso dient, wie dem Forscher und dem akademischen Nachwuchs. Es ist unentbehrlich für alle, die in und mit der Landwirtschaft arbeiten."

Agrarbibliographie

„In der neuen Form wird das Werk weitgehend den Maßstäben gerecht, die man an ein modernes Landwirtschaftslexikon anlegen muß ... Das Lexikon dürfte aber nicht nur — und das kann man heute schon sagen — für jeden, der mit der Landwirtschaft beruflich in Verbindung steht, seien es Genossenschaften, Landhandel, Industrie, Banken, Verwaltungen usw., sondern auch für den landwirtschaftlich interessierten Laien eine gute Stütze sein."

Deutsche Bauernzeitung

„Das Werk gewinnt seinen besonderen Wert dadurch, daß die Herausgeber und Mitarbeiter selbst an der Schöpfung des Fortschrittes der Landwirtschaft, an der Erarbeitung neuer Erkentnisse und neuer Methoden beteiligt gewesen sind."

Landwirtschaftliches Wochenblatt für Westfalen und Lippe

„Selbstverständlich sind die Erläuterungen auf den letzten Stand gebracht. Wer gezwungen ist, sich schnell zu orientieren, bekommt in dieser Kurzauskunft zu den Einzelartikeln Klarheit. Ihre Abfassung ist gleichzeitig so gehalten, daß sie den Leser anregt, sich in der Fachliteratur weiter zu orientieren, sobald Zeit und Gelegenheit dafür gegeben sind."

Rheinische Bauernzeitung

„Wer in und mit der Landwirtschaft zu tun hat, kann auf ein Fachlexikon gar nicht verzichten. Wer findet sich z. B. heute noch zwischen den zahllosen Pflanzenschutzmitteln zurecht, die bei der Vielzahl von Krankheiten und Schädlingen zur Anwendung gelangen? Pareys Landwirtschaftslexikon gibt die gewünschten Auskünfte. Sie stehen plötzlich vor der Aufgabe, ein Differentialgetriebe zu erläutern. In Pareys Landwirtschaftslexikon wird es nicht nur erklärt, sondern auch abgebildet. Sie lesen in einer Zeitschrift einen Artikel über ‚Diallele Paarung' und können mit diesem Begriff nicht viel anfangen. Schlagen Sie in Pareys Landwirtschaftslexikon nach, und Sie finden auch auf diese Frage eine Antwort. ... An alles und alle hat man gedacht bei der Herausgabe dieses wertvollen, allwissenden Buches. Wer das Werk nicht besitzt, hat selbst den Schaden."

OLR Dobert in „Deutsche Landwirtschaftl. Presse"

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag: Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 10—12 Hefte (4 Hefte = 1 Band).